

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**Frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos  
aisladas de pacientes de Hospital Regional Cayetano Heredia Piura, Perú**

**PRESENTADO POR:**

**BR. REBECA DE JESÚS SANDOVAL MOROCHO**

**TESIS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO**

**LÍNEA DE INVESTIGACION: SALUD PÚBLICA**

**Piura-Perú**

**2019**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

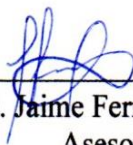
Frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos aisladas de pacientes  
de Hospital Regional Cayetano Heredia Piura, Perú.

LINEA DE INVESTIGACIÓN: SALUD PÚBLICA



---

Bach. Rebeca de Jesús Sandoval Morocho  
Autor



---

Mclgo. Jaime Fernández Ponce  
Asesor



---

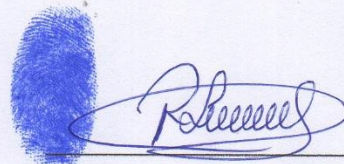
Blgo. Richard vera cruz  
Coasesor

## DECLARACION JURADA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS

Yo, REBECA DE JESUS SANDOVALO MOROCHO, Identificada con DNI N° 47153347, Bachiller de la Escuela Profesional de Ciencias Biológicas, de la Facultad de Ciencias y domiciliada en ENACE Mz D lote 32 primera etapa del Distrito de Veintiséis de octubre, Provincia de Piura y Departamento de Piura, celular 975939099, email: [rebeca\\_12@hotmail.com](mailto:rebeca_12@hotmail.com).

**DECLARO BAJO JURAMENTO:** que la tesis que presento es original e inédita, no siendo copia parcial ni total de una tesis desarrollada y/o realizada en el Perú o en el extranjero, en caso contrario de resultar falsa la información que proporciono, me sujeto a los alcances de lo establecido en el Art. N° 411, del código Penal concordante con el Art. 32° de la Ley N° 27444, y Ley del Procedimiento Administrativo General y las Normas Legales de Protección a los Derechos de Autor,  
En fe de lo cual Firmo la presente,

Piura, 14 de setiembre del 2019



DNI N° 47153347


Artículo 411.- El que, en un procedimiento administrativo, hace una falsa declaración en relación con hechos o circunstancias que le corresponde probar, violando la presunción de veracidad establecida por ley, será reprimido con pena privativa de libertad no menor ni mayor de cuatro años.

Art, 4, Inciso 4, 12 del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales – RENATI Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLOGICAS**

Frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos aisladas de pacientes de Hospital Regional Cayetano Heredia Piura, Perú.

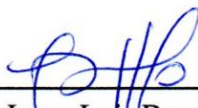
LINEA DE INVESTIGACIÓN: SALUD PÚBLICA



Mcblgo. María Dorothy Torres Gallo M.Sc.  
Presidente de Jurado



Mcblgo. César Augusto Torres Díaz, M.Sc.  
Secretario de Jurado



Mcblgo. Jorge Luis Bermejo Benites  
Vocal de Jurado





# UNIVERSIDAD NACIONAL DE PIURA

## FACULTAD DE CIENCIAS



### ACTA DE SUSTENTACIÓN 040 - 2019-UI-FC-UNP

#### FACULTAD DE CIENCIAS

Los Miembros del Jurado Calificador que suscriben, reunidos para evaluar la Tesis denominada "FRECUENCIA DE *Pseudomonas aeruginosa* RESISTENTES A LOS CARBAPENÉMICOS AISLADAS DE PACIENTES DE HOSPITAL REGIONAL CAYETANO HEREDIA PIURA, PERÚ", presentada por la señorita Bachiller **REBECA DE JESÚS SANDOVAL MOROCHO**, con el asesoramiento del **Mcbigo. Jaime Napoleón Fernández Ponce, MS.c.** y co-asesor **Blgo. Richard Vera Cruz**; oídas las observaciones y respuestas a las preguntas formuladas, y de conformidad al Reglamento de Tesis para obtener el Título Profesional en la Facultad de Ciencias, la declaran:

**APROBADA (X)**

**DESAPROBADA ( )**

Con la mención de:

**MUY BUENA**

(X) En consecuencia, queda en condición de ser ratificado por el Consejo de Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Piura, y recibir el **TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO**.

(X) En consecuencia, queda en condición de ser ratificado por el Consejo Universitario de la Universidad Nacional de Piura, y recibir el **TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO**; después que la sustentante incorpore la sugerencia del Jurado Calificador.

Piura, 22 de julio de 2019.

**UNP**

**Mcbigo. MARÍA DOROTHY TORRES GALLO, MS.c.**  
PRESIDENTE DE JURADO DE TESIS

**Mcbigo. CÉSAR AUGUSTO TORRES DÍAZ, MS.c.**  
SECRETARIO DE JURADO DE TESIS

**Mcbigo. JORGE LUIS BERMEJO BENITES**  
VOCAL DE JURADO DE TESIS



Campus Universitario - Urb. Miraflores S/N. Castilla  
PIURA - PERU

## **DEDICATORIA**

A mis padres José Sandoval y Yojany Morocho por su amor, esfuerzo, dedicación y apoyo incondicional, quienes día a día fueron partícipes de esta meta alcanzada pues con sus consejos y enseñanzas hicieron de mí una persona llena de virtudes y valores.

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, a Dios, por darme vida y salud durante esta etapa de mi vida.

Le doy gracias a mis padres y hermanos por mostrarme su confianza y apoyo incondicional.

De manera especial a mi asesor y maestro Jaime Fernández Ponce; por su guía y apoyo durante este largo proceso, por la confianza brindada, durante el desarrollo de la presente investigación.

Al Mcdlgo. Richard Vera Cruz Patiño, jefe del Servicio de Microbiología de HRCH, por su cooperación en el desarrollo del presente trabajo.

# ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCION .....	1
CAPÍTULO I: ASPECTOS DE LA PROBLEMÁTICA.....	3
1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.....	3
1.2 FORMULACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN. ....	5
1.3 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN .....	5
1.4 OBJETIVOS.....	6
1.4.1. Objetivo general .....	6
1.4.2. Objetivos específicos .....	6
1.5 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....	7
2.1 ANTECEDENTES .....	7
2.2 BASES TEÓRICAS .....	9
2.2.1. Genero <i>Pseudomonas</i> : .....	9
2.2.1.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : .....	10
2.2.2. Etiología.....	11
2.2.3. Patogenia. ....	11
2.2.4. Importancia clínica .....	12
2.2.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirresistentes (MDR).....	13
2.2.6. Carbapenémicos.....	14
2.2.6.1 Resistencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a carbapenémicos.....	14
2.2.7. Mecanismos de resistencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . ....	15
2.2.7.1 Betalactamasas.....	15
2.2.7.2 Disminución de permeabilidad (Inactivación de la porina OprD).....	16
2.2.7.3 Bombas de expulsión .....	16
2.2.8. Carbapenemasas: .....	17
2.2.8.1 Serino–Carbapenemasas: .....	17
2.2.8.2 Metalo Beta-lactamasas (MBL):.....	18
2.3 GLOSARIO DE TÉRMINOS BASICOS .....	18
CAPÍTULO III: MARCO METODOLOGICO: .....	21
3.1 ENFOQUE Y DISEÑO:.....	21



3.2 SUJETO DE INVESTIGACION: .....	21
3.2.1. Población .....	21
3.2.2. Muestra .....	21
3.3 MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS .....	21
3.3.1. Obtención y transporte de muestra. ....	21
3.3.2. Procesamiento de la muestra .....	21
3.3.3. Agentes Antimicrobianos: .....	22
3.3.4. Susceptibilidad Antibiótica: .....	22
3.3.5. Identificación bacteriana.....	22
3.3.5.1 Para la preparación de los paneles .....	22
3.3.5.2 La lectura de los paneles .....	23
3.3.6. Determinación de las cepas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistentes a los carbapenémicos. ....	23
3.3.6.1 Prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método automatizada (CMI). ....	24
3.3.6.2 Prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método difusión en agar, según Kirby Bauer. ....	24
3.3.7. Detección de Metallo- $\beta$ -lactamasas.....	25
3.3.7.1 Prueba de sinergismo con doble disco de difusión y EDTA para la detección de carbapenemasas del tipo metallo- $\beta$ -lactamasas (DDST). ....	25
3.3.7.2 Prueba con discos combinados con inhibidor (EDTA).....	26
3.3.8. Conservación de Cepas Positivas: .....	27
3.3.9. Procesamiento y Análisis de Datos .....	27
3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS .....	27
3.5 ASPECTOS ÉTICOS .....	27
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
4.1 RESULTADOS .....	28
4.2 DISCUSIÓN.....	41
CONCLUSIONES .....	47
RECOMENDACIONES .....	48
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	49
ANEXOS .....	58

## INDICE DE TABLAS:

<b>Tabla 4.1.</b> Frecuencia de aislamientos de <i>P. aeruginosa</i> resistente a los carbapenémicos en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.....	28
<b>Tabla 4. 2.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> resistente a los carbapenémicos según el tipo de muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	29
<b>Tabla 4. 3.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> resistente a los carbapenémicos según el servicio de aislamiento de la muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	30
<b>Tabla 4. 4.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> resistente a carbapenémicos según el sexo del paciente del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	31
<b>Tabla 4. 5.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> resistente a los carbapenémicos según la edad del paciente en Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	32
<b>Tabla 4. 6.</b> Cepas de <i>P. aeruginosa</i> productoras de carbapenemasas de tipo métalo $\beta$ -lactamasas por el método de sinergia de doble disco (DDS) en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	33
<b>Tabla 4. 7.</b> Cepas de <i>P. aeruginosa</i> productoras de carbapenemasas de tipo métalo $\beta$ -lactamasas por el método de discos combinados con EDTA, en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	34
<b>Tabla 4. 8.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> según el tipo de muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	35
<b>Tabla 4. 9.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> según el tipo de muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	36
<b>Tabla 4. 10.</b> Frecuencia de aislamientos de <i>P. aeruginosa</i> según procedencia del paciente en el Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	37
<b>Tabla 4. 11.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> según el sexo del paciente del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	38
<b>Tabla 4. 12.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> según la edad del paciente del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	39

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 4. 1.</b> Frecuencia total de <i>P. aeruginosa</i> de pacientes que asistieron al Hospital Regional José Cayetano Heredia, Piura, Perú, de noviembre 2017 a setiembre de 2018. ....	28
<b>Gráfico 4. 2.</b> Frecuencia de aislamientos de <i>P. aeruginosa</i> resistente a los carbapenémicos en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	29
<b>Gráfico 4. 3.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> resistente a los carbapenémicos según el tipo de muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	30
<b>Gráfico 4. 4.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> resistente a los carbapenémicos según el servicio de aislamiento de la muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	31
<b>Gráfico 4. 5.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> resistente a los carbapenémicos según el sexo del paciente del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	32
<b>Gráfico 4. 6.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> resistente a los carbapenémicos según la edad del paciente en Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	33
<b>Gráfico 4. 7.</b> Cepas de <i>P. aeruginosa</i> productoras de carbapenemasas de tipo metalo $\beta$ -lactamasas por el método de sinergia de doble disco (DDS) en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	34
<b>Gráfico 4. 8.</b> Cepas de <i>P. aeruginosa</i> productoras de carbapenemasas de tipo metalo $\beta$ -lactamasas por el método de discos combinados con EDTA en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	35
<b>Gráfico 4. 9.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> según el tipo de muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	36
<b>Gráfico 4. 10.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> según el servicio de aislamiento de la muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	36
<b>Gráfico 4. 11.</b> Frecuencia de aislamientos de <i>P. aeruginosa</i> según procedencia del paciente en el Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	38
<b>Gráfico 4. 12.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> según el sexo del paciente del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	39
<b>Gráfico 4. 13.</b> Frecuencia de cepas de <i>P. aeruginosa</i> según la edad del paciente en Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú. ....	40

## ÍNDICE FIGURAS

<b>Figura 3 1.</b> Representación esquemática de la colocación de los discos para la prueba de sinergia de doble disco.....	25
<b>Figura 3 2.</b> Representación esquemática de la colocación de los discos para la prueba de discos combinados con inhibidor EDTA. ....	26

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO 1.</b> Área de estudio.....	59
<b>ANEXO 2.</b> Cepas, aislamiento e identificación. ....	60
<b>ANEXO 3.</b> Detección de carbapenemasas.....	62
<b>ANEXO 4.</b> IMÁGENES DE LA DETECCIÓN DE RESISTENCIA A LOS CARBAPENEMICOS EN <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	63
<b>ANEXO 5.</b> IMÁGENES DE LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS MEDIANTE MÉTODOS FENOTÍPICO DE SINERGIA DE DOBLE DISCO (DDS).....	64
<b>ANEXO 6.</b> IMÁGENES DE LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS MEDIANTE MÉTODOS CON DISCOS COMBINADOS CON INHIBIDOR (EDTA). ....	67
<b>ANEXO 7.</b> MEDIO PARA CONSERVACIÓN LA DE LAS CEPAS DE <i>P. aeruginosa</i> . ....	68
<b>ANEXO 8.</b> DATOS DE LAS CEPAS EN ESTUDIO. ....	68
<b>ANEXO 9.</b> ABREVIATURAS, Y FUNDAMENTO DE LAS REACCIONES DE SUSTRATOS DEL PANEL PARA GRAM NEGATIVOS EN EL MICROSCAN. ....	70
<b>ANEXO 10.</b> ABREVIATURAS, DE LOS ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS EN EL PANEL DE ID.74	

## RESUMEN:

*Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) es un microorganismo oportunista que causa infecciones intrahospitalarias en pacientes inmunosuprimidos y producen diversos mecanismos de resistencia a varios tipos de antibióticos, entre estos se destacan las carbapenemasas que hidrolizan a todos los betalactámicos y además causan graves problemas de salud a nivel mundial ya que representan el último recurso para el tratamiento de infecciones por bacterias multirresistentes, por tal motivo el objetivo de este estudio es determinar la frecuencia de *P. aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos aisladas de pacientes de hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú entre los meses de noviembre 2017 a septiembre del 2018. La investigación se realizó en el laboratorio de microbiología, e incluyó el estudio de 60 aislamientos no repetidos de *P. aeruginosa* aisladas de pacientes hospitalizados y ambulatorios; se determinó la identificación y sensibilidad de *Pseudomonas aeruginosa* por el equipo automatizado MICROSCAN WALK AWAY 96 PLUS, además se realizó la técnica de disco difusión, de acuerdo al CLSI 2018. La frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos fue de 53.3 %, de los cuales eran además sospechosas a carbapenemasas. De los 32 aislamientos de *P. aeruginosa* sospechosas a carbapenemasas 17 (53.1 %) cultivos fueron productores de metalo- $\beta$ -lactamasas por el método de sinergismo con doble disco de difusión y EDTA (DDST) a diferencia del método de discos combinados con EDTA (DC) que la frecuencia fue de 22 (68.8 %) productoras de carbapenemasas de tipo metalo- $\beta$ -lactamasas.

El 100 % de cepas de *P. aeruginosa* en las que se detectó resistencia a los carbapenémicos provinieron de pacientes hospitalizados, de estos aislados el 62.50 % correspondieron al sexo masculino; el 87.50 % de casos corresponden a pacientes cuya edad es mayor de 60 años.

**Palabras claves:** *Pseudomonas aeruginosa*, resistencia, carbapenemasas, EDTA, metalo- $\beta$ -lactamasas.



## ABSTRACT

*P. aeruginosa* (*P. aeruginosa*) is an opportunistic microorganism that causes intrahospital infections in immunosuppressed patients and produces various mechanisms of resistance to several types of antibiotics, among these include the carbapenemases that hydrolyze all betalactamics and cause serious health problems. This is the objective of this study to determine the frequency of *P. aeruginosa* resistant to the carbapenemics isolated from patients of hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Peru among the from November 2017 to September 2018. The research was conducted in the microbiology laboratory, and included the study of 60 non-repeated isolates of *P. aeruginosa* isolated from hospitalized and outpatients; the identification and sensitivity of *P. aeruginosa* was determined by the automated equipment MICROSCAN WALK AWAY 96 PLUS was also performed disc diffusion technique, according to CLSI 2018. The frequency of strains of *P. aeruginosa* resistant to carbapenémicos was 53.3%, of which were also suspicious to carbapenemases. Of the 32 isolates of *P. aeruginosa* suspected to carbapenemases 17 (53.1%) cultures were producers of metallobetalactamases by the EDTA synergism method with double disc diffusion (DDST) unlike the method of discs combined with EDTA (DC) which frequency was of 22 (68.8%) producers of metallo- $\beta$ -lactamase type carbapenemases.

100% of strains of *P. aeruginosa* in which resistance to carbapenémicos was detected came from hospitalized patients; of these isolates 62.50% corresponded to the male sex; 87.50% of cases correspond to patients whose age is over 60 years.

**Key words:** *P. aeruginosa*, resistance, carbapenemases, EDTA.

## INTRODUCCION

*Pseudomonas* es un género complejo y amplio de bacterias de gran importancia ya que incluye tanto especies ambientales como especies con implicaciones clínicas. Se incluye dentro de la clase proteobacteria, el orden pseudomonadales y la familia Pseudomonadaceae, siendo Migula en 1894 el primero en proponer este género (Henry y Speert, 2011).

*P. aeruginosa* (*P. aeruginosa*) es uno de los patógenos oportunistas más importantes, causantes de infecciones, con altos índices de morbilidad y mortalidad (Nicolau y Olivier, 2010). Es considerado un patógeno primariamente nosocomial, siendo común su aislamiento en pacientes de Unidades de Cuidados Intensivos, en quienes además presenta una marcada multirresistencia (Perozo, Castellano, Chávez, Ling y Arraiz, 2013)

Las principales manifestaciones de la infección por *P. aeruginosa* es en infecciones nosocomiales. Permaneciendo en varios estudios entre los primeros lugares de agentes etiológicos de las infecciones hospitalaria, en el estudio SENTRY fue el tercer agente más frecuente; y además fue considerada como el germen multirresistente más frecuente dentro de los hospitales (Pérez et al., 2013).

A nivel mundial se ha estimado que las infecciones intrahospitalarias ocurren en el 5 % de todos los pacientes que ingresan a un hospital. En su mayoría son causadas por gérmenes Gram negativos, los cuales pueden desarrollar múltiples mecanismos de resistencia bacteriana, dentro de estos gérmenes se encuentra la *P. aeruginosa*. Debido a que presenta diversos mecanismos de resistencia contra los agentes terapéuticos como: las  $\beta$ -lactamasas que son enzimas capaces de romper e inactivar el anillo beta-lactámico que forma parte de la estructura molecular de los antibióticos beta-lactámicos (Jimeno, Alcalde y Blázquez, 2011).

Otro mecanismo son las  $\beta$ -lactamasas AmpC que median la resistencia a cefalosporinas, aztreonam, e inhibidores de  $\beta$ -lactamasas. Presentan baja afinidad a los carbapenemes, sin embargo, pueden ocurrir mutaciones espontáneas, que llevan a la producción constitutiva de esta enzima en suficiente cantidad y puede hidrolizar los antibióticos antes mencionados (Martinez, Mercado y Máttar, 2005).

Por otro lado las bombas de expulsión, siendo la más frecuente MexAB-OprM, que media la expulsión de meropenem, fluoroquinolonas, tetraciclinas, macrólidos, cloranfenicol y trimetoprim. La MexXY-OprM expulsa aminoglucósidos (Jimeno, Alcalde y Blázquez, 2011).

Y por último las pérdidas de porinas. La OprD, es la principal vía de entrada de los carbapenémicos, la pérdida de esta porina comporta una disminución de la sensibilidad de *P. aeruginosa* a estos antibióticos, lo que lleva a una resistencia. (Piersigilli et al., 2009)

Los carbapenémicos imipenem y meropenem son los fármacos de elección para el tratamiento de las infecciones causadas por *P. aeruginosa*, sin embargo, la frecuencia de

aislamientos de cepas resistentes a estos medicamentos se ha incrementado considerablemente en todo el mundo y en América Latina, incluyendo Perú (Gonzales, 2013), donde la prevalencia de infecciones por *P. aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos ha crecido rápidamente, al igual que en nuestra región Piura.

Por lo tanto, surge la necesidad de obtener datos que permitan calcular la frecuencia de *P. aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos aisladas de pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia Piura, Perú.

En la presente investigación se analizaron 60 aislamientos de *P. aeruginosa* entre noviembre del 2017 y setiembre del 2018, en el Hospital Regional Cayetano Heredia Piura, Perú, de las cuales se encontró una frecuencia de 53.30% de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos.

Es decir, se concluye que el análisis microbiológico de todos los aislamientos contuvo un porcentaje significativo de infección por *P. aeruginosa*.

El informe se desarrolla en cuatro capítulos. En el primer capítulo se describen aspectos de la problemática de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos., en la segundo sección se desarrolla el marco teórico que abarca los antecedentes, bases teóricas del tema, un glosario de términos y el enunciado del problema e hipótesis. En el tercer capítulo se desarrolla el marco metodológico que explica los sujetos de investigación y los métodos y procedimientos empleados. En el último apartado se presentan los resultados de la investigación y se realiza el análisis de los resultados.

# CAPÍTULO I: ASPECTOS DE LA PROBLEMÁTICA

## 1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.

La resistencia bacteriana constituye una amenaza cada vez mayor para la salud pública a nivel mundial. En los últimos años se ha observado la aparición y gran dispersión de los bacilos Gram negativos resistentes a los carbapenémicos, en los que el mecanismo implicado es la producción de betalactamasas capaces de hidrolizar este grupo de antimicrobianos (Calvo, Fernández, Mirelis y Navarro, 2011; Nordmann, 2014).

*Pseudomonas* es un género complejo y amplio de bacterias de gran importancia ya que incluye tanto especies ambientales como especies de implicación clínica. Son bacilos Gram negativos rectos o ligeramente curvados, no fermentadores de azúcares, móviles debido a que poseen uno o más flagelos polares, aerobios, catalasa y oxidasa positiva; es un microorganismo oportunista que posee una extraordinaria capacidad adaptativa y versatilidad metabólica (Pérez, 2014).

*P. aeruginosa* es considerado un microorganismo patógeno oportunista altamente versátil, capaz de tolerar condiciones bajas de oxígeno. Puede sobrevivir con bajos niveles de nutrientes y crecer en rangos de temperatura de 4 a 42°C. Estas características le permiten adherirse y sobrevivir en equipos médicos y otras superficies hospitalarias (Ochoa et al., 2013). Esta adaptabilidad para vivir bajo muy diversas condiciones ambientales y con escasos requerimientos nutritivos explica su gran ubicuidad tanto en ambientes terrestres como acuáticos; este género sobrevive en ambientes tan variados y cotidianos (Pérez, 2014).

Las infecciones por *P. aeruginosa*, principalmente en el ambiente hospitalario se caracterizan por ser resistentes a los antibióticos, difíciles de tratar, con estancias prolongadas de hospitalización, con tasas cada vez mayores, con complicaciones severas (Sánchez, 2004). Debido a sus diversos factores de virulencia contribuyen aumento de la mortalidad, prolongación de la estancia hospitalaria y un incremento considerable en los costos de atención (Aguilar, Labrín, y Moreno, 2016). Las personas afectadas presentan varias enfermedades y antecedentes de uso frecuente de tratamientos inadecuados (Valderrama et al., 2016).

*P. aeruginosa* es de gran relevancia clínica ya que se encuentra entre los cinco gérmenes más aislados en hospitales de Latinoamérica (Saavedra, Duarte, González, y Realpe, 2014); es causa frecuente de infecciones asociadas al cuidado de la salud, principalmente en pacientes con enfermedades subyacentes como patologías malignas, inmunodeficiencias, fibrosis quística, quemaduras. También, se presentan con frecuencia en el ambiente intrahospitalario (Sandoval et al., 2011) y en pacientes severamente comprometidos especialmente en unidades de cuidados intensivos (UCI) (Gómez, Leal, Pérez y Navarrete, 2005).

Dentro de las infecciones nosocomiales, *P. aeruginosa* es un problema, ya que en algunos casos se ha reportado como la segunda causa más común en las neumonías (17%), la tercera causa

en infecciones de tracto urinario (7%), la cuarta causa de infección en herida quirúrgica (8%), la séptima causa en aislados de hemocultivos (2%) (Martínez y Núñez, 2011).

Pues tiene la capacidad de tornarse resistente en el transcurso del tratamiento, pues los mismos antibióticos son capaces de inducir los mecanismos de resistencia (Bolaños y Lannacone, 2016) , debido a la disminución de la permeabilidad de su membrana externa, a la expresión constitutiva de varias bombas de expulsión y a la producción de enzimas que inactivan a los antibióticos (Roca, 2014); mediante la adquisición de genes de resistencia situados en elementos genéticos (plásmidos, integrones) o a través de mutaciones que alteran la expresión o la función de mecanismos de codificación cromosómica (Vila y Marco, 2010).

Es poco frecuente que cause enfermedad en personas sanas, aunque se ha aislado como parte de la microbiota con tasas que se reportan de 0 a 2% para la piel, de 0 a 3,3% para la mucosa nasal, de 0 a 6,6% en la garganta y de 2,6 a 24% para las muestras fecales (Vilar Compete, Jacquemin, Diaz, Velasquez, y Volkow, 2003; Rojas, 2009).

Sin embargo, la tasa de colonización podría superar el 50% durante la hospitalización cuando reciben terapia antimicrobiana. En la mayoría de los casos la enfermedad clínica se inicia con alguna alteración de la defensa del huésped; esto involucra el estado inmunológico alterado (neutropenia, inmunosupresión iatrogénica, etc.) y en otros casos involucra la ruptura de la integridad de la barrera física de la piel o mucosas, dando paso a la invasión bacteriana en líneas intravenosas, catéteres urinarios, tubos endotraqueales, cirugías, quemaduras, etc. (Rojas, 2009, Roca, 2014; Streeter y Katouli, 2016).

Además *P. aeruginosa* es naturalmente resistente a la mayoría de las penicilinas, las cefalosporinas de primera, segunda y muchas de la tercera generación salvo (ceftazidima), las tetraciclinas, cotrimoxazol y la rifampicina. Esta resistencia basal se debe a la poca permeabilidad de su membrana externa, mucho menor que las de las enterobacterias (Fariñas y Martínez, 2013).

Y el abuso de la administración de los  $\beta$ -lactámicos y carbapenemes en *P. aeruginosa* es un factor importante en la generación de organismos multirresistentes, que en el futuro limitará la elección de esquemas terapéuticos ante infecciones agudas (Díaz, 2008).

El Hospital Regional Cayetano Heredia (HRCH) Piura, es un centro que cuenta con todas los departamentos adecuados para la atención asistida a los pacientes hospitalizados y de consulta externa, donde la infección de *P. aeruginosa* es significativa para el hospital, ya que se ha observado un hallazgo creciente de esta bacteria, por la cual se tomó iniciativa de investigación epidemiológica, siendo muy importante para el control de infecciones en pacientes hospitalizados causadas por esta bacteria, donde la probabilidad de complicaciones al tratamiento son altas, por la razón que presenta demasiada resistencia en el transcurso del tratamiento.



## 1.2 FORMULACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuál es la frecuencia de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos de pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú?

## 1.3 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

*P. aeruginosa* ha permanecido en primer lugar como agente etiológico de múltiples infecciones asociadas con el cuidado de la salud y liderado como germen multirresistente asociados a infecciones (Cuesta et al., 2012), estas son difíciles de erradicar debido a su elevada resistencia intrínseca (Ochoa et al., 2013).

Las infecciones intrahospitalarias de los centros de salud, representan un importante problema de salud pública, ya que incrementan la morbilidad de los pacientes, afectan su calidad de vida e incrementan los costos, esto último se debe principalmente a que alargan la estancia hospitalaria y aumentan el número de fármacos usados.

El tratamiento de las infecciones nosocomiales causadas por cepas de *P. aeruginosa* es actualmente un verdadero desafío terapéutico debido a los múltiples mecanismos de resistencia presentes en este agente patógeno. Además, aumentado la frecuencia de brotes nosocomiales de infecciones por *P. aeruginosa*.

Se ha demostrado en las últimas décadas la emergencia y diseminación de cepas de bacilos Gram negativos productores de carbapenemasas del tipo metalobetalactamasas (MBL) en diferentes partes del mundo. Sin embargo, *P. aeruginosa* continúa siendo el microorganismo más frecuentemente asociado a MBL a nivel mundial, representando hasta el 40% de todos los casos (Mena et al, 2012).

La resistencia a carbapenemes en *P. aeruginosa*, ha ido en aumento a nivel mundial en los últimos años, representando un gran problema para los sistemas de salud debido a la falta de opciones terapéuticas para tratar infecciones producidas por estos gérmenes multirresistentes (García, Astocondor, y Banda, 2012; Perozo et al., 2013). Por ello, la detección temprana de cepas productoras de carbapenemasas tipo MBL en los laboratorios clínicos es fundamental, para definir una terapia antimicrobiana empírica e implementar las medidas de control de infecciones, evitando la diseminación de las cepas multirresistentes en los hospitales.

Debido a la gran importancia que tienen actualmente las infecciones intrahospitalarias y a la aparición de gérmenes multirresistentes, *P. aeruginosa* a la cabeza, se creyó conveniente realizar la presente investigación, la cual tiene como finalidad determinar la frecuencia de *P. aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos aisladas de pacientes del Hospital III José Cayetano Heredia de Piura.

## **1.4 OBJETIVOS**

### **1.4.1. Objetivo general**

- Determinar la frecuencia de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a los carbapenémicos aisladas de pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

### **1.4.2. Objetivos específicos**

- Aislar e identificar cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.
- Determinar las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos de pacientes del Hospital Cayetano Heredia Piura – Perú.
- Hallar la frecuencia de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a los carbapenémicos aisladas de pacientes del hospital Cayetano Heredia de la ciudad de Piura, Perú.

## **1.5 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Regional Cayetano Heredia durante los meses de noviembre de 2017 hasta noviembre 2018.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 ANTECEDENTES

#### Antecedentes Internacionales

En un estudio realizado en España en 136 hospitales sobre la resistencia antibiótica *Pseudomonas aeruginosa* constituyó el 30 % de los cultivos polimicrobianos aislados. La mayoría de cepas resistentes al meropenem fueron también resistentes a imipenem (López, 2002).

En Cartagena, España, se detectaron seis aislamientos consecutivos de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* con el mismo perfil de resistencia a imipenem y cefalosporinas, manteniendo sensibilidad al aztreonam. Se determinó la presencia de MBL tipo VIM (Jimeno, Alcalde y Blázquez, 2011).

En Bogotá, Colombia, las tasas de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* al imipenem varían considerablemente entre los diferentes hospitales de la red desde 2% hasta 71.4%; y entre las unidades hospitalarias, que son entre 13.5% en salas contra 26.6% en unidades de cuidados intensivos (Villegas et al., 2005). También, en 2014 se obtuvieron 57 aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa*, de los cuales 55 fueron resistentes a los carbapenémicos, mientras que solo dos fueron sensibles. De los resistentes, en 43 se confirmó la presencia de carbapenemasas; el mayor porcentaje de sensibilidad se presentó frente a la colistina (96.4 %; n=53). Los 43 aislamientos productores de carbapenemasas presentaron perfil de multiresistencia; 76.7 % fue positivo con el test modificado de Hodge y 79.1 % presentó sinergia con MBL (Saavedra, Duarte, González y Realpe, 2014).

En Brasilia, Brasil, se aislaron cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a imipenem a partir de muestras de orina, esputo, sangre, aspirado traqueal, aspirado bronquio alveolar, resultando el 31.2 % de cepas productoras de MBL, detectados por el método de sinergia de doble disco usando 2-MPA y CAZ (30µg) y el método de discos combinados de IMI (10µg) con EDTA y sin EDTA (750µg) (Magalhaes, Lins y Magalhaes M, 2005).

En Caracas, Venezuela, se encontró que el 40% de cepas de *P. aeruginosa* y *A. baumannii* resistentes a carbapenémicos mostró actividad hidrolítica a carbapenémicos y, de este porcentaje, alrededor de un 25% fueron detectadas como productoras de MBL de la familia VIM (Torres et al., 2005).

En Buenos Aires, Argentina, se encontraron aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resultando 11.1% con el patrón fenotípico MBL (Pagniez et al., 2006). Igualmente, en Buenos Aires, Argentina, se reportó una incidencia de MBL de 11% para enzimas tipo VIM, y de 14% para el tipo IMP (Cejas et al., 2008). Asimismo, se halló *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes internados en diferentes servicios del Hospital “Eva Perón” de la provincia de Buenos Aires; el 14% de cepas presentó el patrón fenotipo de resistencia MLB (Cejas et al., 2008), mientras que en Santiago de Chile se encontró una incidencia de MBL en 18.6% del tipo VIM (Pérez et al., 2008).

En la Habana, Cuba, en diferentes muestras clínicas (sangre, secreción del conducto auditivo externo, esputo, ulcera de miembros inferiores y dispositivos intravasculares) entre enero y diciembre 2012, se obtuvieron cepas de *P. aeruginosa* de origen comunitario y hospitalario y se observó niveles sensibilidad superior al 80 % al aztreonam, gentamicina, ceftazidima y amikacina. Se encontró altos niveles de resistencia al cloranfenicol, tetraciclina y piperacilina. (Cabrera y Díaz, 2014).

En san Lorenzo, Paraguay, de 232 aislamientos de *P. aeruginosa*, con métodos fenotípicos se pudo comprobar cepas productoras de carbapenemasas tipo MBL en una frecuencia de 7.8% (Molin, 2016).

En Bogotá, Colombia se encontró durante los años 2013-2014 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* con perfiles de resistencia de metalo- $\beta$ -Lactamasas, con pérdida de porina OprD y GES-2 para un 23.1% en total, seguido por la presencia de expresión de AmpC con un 7.7% y finalmente la expresión de BLEE y resistencia aislada a piperacilina tazobactam en igual proporción (Alvarado, 2014).

En Buenos Aires, Argentina, se recolectaron 514 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de las cuales el 12% presentó el fenotipo carbapenemasa tipo KPC al presentar resistencia al ATM y no haber sinergia entre los discos carbapenémicos y el disco de EDTA (Pasteran, 2014).

### **Antecedentes nacionales**

En el 2001, en Lima, Perú, se reportó para *Pseudomonas aeruginosa* resistencia a gentamicina (87.5%) y ciprofloxacina (68.8%), y se reportó sensibilidad a aztreonam, meropenem e imipenem (Nuñez, Soto, Calmet, Castillo y Casalindo, 2001), mientras que también hubo información de la presencia de metalo  $\beta$ -lactamasas en 7% de las cepas de *P. aeruginosa* aisladas de pacientes hospitalizados (Díaz, 2008).

Asimismo, se analizaron 113 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aislados de hemocultivos de varios hospitales de Lima, Perú, y se comunicó que el 59 % de las cepas fueron multirresistentes para ciprofloxacina, imipenem, amikacina y ceftazidime (García, Astocondor y Banda, 2012), mientras que en seis hospitales de referencia de la misma ciudad se informó la presencia de MBL en un 15.7% de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. En otros reportes se informó el 18.8% de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* MBL positivas, y por tanto resistentes a carbapenémicos, aisladas de cinco hospitales de Lima; y en el Instituto de Salud del Niño, el 21.7 % de cepas aisladas de *P. aeruginosa* MBL de los tipos IMP y VIM (Gonzales, 2013; Ríos, 2013).

Por otro lado, también en Lima, Perú, en seis hospitales de referencia, en 51 aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a ceftazidima y con sensibilidad reducida a carbapenémicos, se detectó MBL en el 15.7%; en todos ellos se demostró la presencia del gen bla IMP (Gonzales et al., 2013), mientras que, en aguas de cisterna, pozo, presa y residual doméstica se demostró *Pseudomonas aeruginosa* en el 59.4% de las muestras (Villegas, 2012).

En Trujillo, Perú, de 58 cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* estudiados, 28 fueron productores de carbapenemasas, lo que equivale a un 48 % y 8 fueron productores de MBL, lo que representa un 14 % del total. (Julca, 2016).

En el hospital Regional Lambayeque, Perú, en muestras de secreciones y líquidos provenientes de pacientes con diagnóstico presuntivo de infección, se encontró *Pseudomonas aeruginosa* productoras de carbapenemasas del tipo MBL (Gastelo, 2016).

Asimismo también en Lima Perú, se encontró de 150 aislamientos, una frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* de (9%), con una resistencia de imipenem (53 %), presentando el mayor número de aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* en secreción traqueal 30 (19%), y el servicio con mayor procedencia fue la unidad de cuidados intensivos 31 (18%), además 80 fueron sospechosos a carbapenemasas con 53,3% y de estas cepas se hallaron 3 (4%) cepas positivas para carbapenemasas de tipo MBL (Carranza y Vásquez, 2017).

En el hospital regional José Cayetano Heredia de Piura, Perú, se obtuvo 26 aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa*, distribuidos en 57.7% en muestras de aspirados bronquiales; 15.4% en catéteres; 7.7% en secreciones bronquiales, sangre, heridas y 3.8% en orinas. De los nueve servicios de hospitalización, seis presentaron casos de infecciones intrahospitalarias por *Pseudomonas aeruginosa*. El mayor número de casos se halló en la Unidad de cuidados intermedios (UCIN) con 34.6%, seguido de la unidad de cuidados intensivos (UCI) 26.9% y Medicina con 23.1%, Neonatología 7.7% y Cirugía A pediatría 3.8% (García, 2011).

Mientras que, en 2015 en mismo Piura Perú, se reportó que la incidencia de infecciones intrahospitalarias por *Pseudomonas aeruginosa* en el mismo nosocomio fue 8.8%. El 30% de los casos ocurrió en UCI, el 28.3% en Medicina Interna y el 25% en UCIN. Son las áreas críticas las que concentran la mayor cantidad de casos. Además, el 88% de los pacientes había recibido antibióticos previos a la infección por *P. aeruginosa* (Cueva, 2015).

## **2.2 BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. Genero Pseudomonas:**

*Pseudomonas* es un género complejo y amplio de bacterias de gran importancia ya que incluye tanto especies ambientales como especies con implicaciones clínicas. Se incluye dentro de la clase-proteobacteria, el orden pseudomonadales y la familia Pseudomonadaceae, siendo Migula en 1894 el primero en proponer este género, el nombre de *Pseudomonas* proviene del griego y literalmente significa “falsa unidad” (Henry & Speert, 2011).

Las especies del género *Pseudomonas* tiene la propiedad de degradar infinidad de sustratos y de utilizar diferentes fuentes de carbono como nutrientes lo cual les permite colonizar ambientes y nichos ecológicos que difícilmente son colonizados por otros microorganismos; intervienen en la degradación y reciclaje de materia orgánica, contribuyendo de esta manera a mantener limpio y



saludable el medio ambiente (Díaz, 2008).

### **2.2.1.1 *Pseudomonas aeruginosa*:**

*P. aeruginosa* es una bacteria estrictamente aerobia, Gram negativa en forma de bacilo recto o ligeramente curvo de 1,5 a 3µm, es móvil por flagelos polares, su temperatura óptima de crecimiento es de 37-42°C. No fermenta carbohidratos, pero muchas cepas oxidan glucosa. No forman esporas. La identificación fenotípica se basa en la morfología de la colonia, prueba de oxidasa positiva, la no fermentación de glucosa y presencia de pigmentos característicos (Murray, 2010).

Es un bacilo Gram negativo aerobio, considerado un patógeno oportunista, es un microorganismo altamente versátil, capaz de tolerar condiciones bajas de oxígeno. Puede sobrevivir con bajos niveles de nutrientes y crecer en rangos de temperatura de 4 a 42°C. Estas características le permiten adherirse, sobrevivir en equipos médicos y en otras superficies hospitalarias (Ochoa et al., 2013). Esta adaptabilidad para vivir bajo muy diversas condiciones ambientales y con escasos requerimientos nutritivos, explica su gran ubicuidad tanto en ambientes terrestres como acuáticos, este género sobrevive en ambientes tan variados y cotidianos (Pérez, 2014) y puede ser causa de infecciones relacionadas con instrumental (como por ejemplo catéteres, estetoscopios, drenajes, implantes, soluciones acuosas, desinfectantes, jabones, etc.), al que se adhiere y adapta (Lanini et al., 2011). Pero también es encontrada fuera del hospital, en lugares tan cotidianos como piscinas, tubos de agua caliente, soluciones limpiadoras de lentillas, cremas cosméticas o el interior de zapatillas deportivas (Lister et al., 2009; Abidi et al., 2013).

La colonia típica es alargada y plana con el centro algo elevado, pero, en general, existe una heterogeneidad respecto a morfología, pigmentación y movilidad dentro de la especie *P. aeruginosa*. Además, presenta un olor característico a “uva” que se transforma en olor a “palomita de maíz” cuando son cultivos viejos (Henry & Speert, 2011). No es uno de los microorganismos más frecuentes de la microbiota bacteriana de individuos sanos o de animales, pero el tracto gastrointestinal es el lugar más común de colonización en los seres humanos (detectado entre el 2,6 y el 24% en muestras fecales); dejando en segundo plano a la piel, faringe, fosas nasales o axilas (Lister et al., 2009).

*P. aeruginosa* puede sobrevivir en ambientes húmedos con mínimos requerimientos nutritivos, la degradación de los glúcidos lo realizan utilizando la ruta de Entner Doudoroff y el ciclo de los ácidos tricarboxílicos. In vitro crecen formando colonias lisas circulares, irregulares o mucosas con capacidad de formar biopelículas en la mayoría de las superficies abióticas y biológicas. Algunas cepas producen hemólisis y con frecuencia producen pigmentos fluorescentes bajo la acción de luz ultravioleta (UV) a baja longitud de onda, sobre todo cuando crecen en medios con limitación de hierro. Los pigmentos de importancia clínica son la Píocianina (azul) y la Píoverdina (verde fluorescente). Otras cepas producen Píorrubina (rojo oxidado), Píomelanina (negro). Presentan plásmidos, los cuales son responsables de la incorporación y diseminación de los genes de resistencia a los antibióticos, desinfectantes y a las condiciones ambientales (Salvador, 2017).

### 2.2.2. Etiología

La infección por *P. aeruginosa*, un bacilo Gram negativo móvil ampliamente distribuido en el medio ambiente, tiene importancia en el contexto epidemiológico actual debido a la emergencia de resistencia a los carbapenémicos, lo que representa una amenaza para la salud pública mundial (Valderrama et al., 2016). La mayoría de los estudios indican una tasa de mortalidad atribuible de aproximadamente el 34% a las infecciones por *P. aeruginosa* (Saavedra, Duarte, González y Realpe, 2014) y ocupa el tercer lugar de 11% en frecuencia de aislamiento recuperados de pacientes hospitalizados (Gastelo, 2016).

### 2.2.3. Patogenia.

*P. aeruginosa* puede causar infecciones urinarias, infecciones respiratorias, dermatitis, infecciones de los tejidos blandos, bacteriemia, infecciones óseas y articulares, infecciones gastrointestinales y diversas infecciones sistémicas. Cualquier infección por *P. aeruginosa* constituye un problema grave en pacientes inmunodeprimidos con cáncer, sida o quemaduras graves o en pacientes con infecciones crónicas como la fibrosis quística. En algunos de estos pacientes, el índice de letalidad alcanza casi el 50% (Hoffmann, Roche y Polyphor, 2013).

*P. aeruginosa* produce gran variedad de toxinas importantes muchas de las cuales pueden causar shock, inducir la muerte de células, e incluso hidrolizar proteínas estructurales de los tejidos. La toxina más potente es la exotoxina A, que inhibe la síntesis proteica en las células eucariotas, su expresión está inducida por las condiciones limitantes de oxígeno que se encuentran en el huésped y está posiblemente implicada en la dermatonecrosis que tiene lugar en las quemaduras o en el daño tisular en las infecciones pulmonares crónicas (Carranza y Vásquez, 2017).

La destrucción tisular asociada con las infecciones de *P. aeruginosa* también puede ser atribuida a las elastasas que hidrolizan la elastina, el fibrinógeno, el colágeno, la transferrina e incluso, las inmunoglobulinas y algunos componentes del complemento, así como la proteasa alcalina que tiene como sustratos ciertos componentes del complemento, la fibrina, la laminina, y el interferón gamma (Carranza y Vásquez, 2017).

La colonización de los tejidos implica la existencia de adhesinas; las mejores caracterizadas son las adhesinas de las fimbrias, aunque otros tipos de adhesinas, incluyendo lipopolisacárido, flagelos, proteínas de la membrana externa y alginato, también contribuyen a la adhesión de este microorganismo a superficies tanto bióticas como abióticas (Carranza y Vásquez, 2017).

Los factores que se sabe juegan un papel importante en la patogénesis incluyen adhesinas, exotoxinas, proteasas, hemolisinas y el sistema de secreción de tipo III. A pesar de esta enorme colección de factores de virulencia *P. aeruginosa* rara vez infecta personas inmunocompetentes o tejidos que no están dañados. Un declive de la función inmunológica, es normalmente un prerrequisito para las infecciones por este patógeno oportunista (Carranza y Vásquez, 2017).

Existe un grupo poblacional vulnerable a la infección por *P. aeruginosa* formado por

enfermos de fibrosis quística, *P. aeruginosa* coloniza muy eficientemente el tracto respiratorio de estos pacientes y a medida que progresa la infección se seleccionan cepas mucoides de la bacteria que producen grandes cantidades del exopolisacárido alginato. Una vez que se establece una infección por cepas mucoides de *P. aeruginosa* en los pulmones de estos pacientes, ellos entran a la etapa terminal de la enfermedad, debido a que estas cepas no pueden ser eliminadas del pulmón y hasta ahora no existe tratamiento efectivo contra estas cepas mucoides (Suárez et al., 2006).

#### **2.2.4. Importancia clínica**

Las infecciones ocasionadas por *P. aeruginosa* están relacionadas al ambiente hospitalario, constituyendo un grave problema clínico. Se le ha asociado a infecciones relacionadas con instrumental médico: catéteres, estetoscopios, prótesis, soluciones acuosas, desinfectantes, jabones, etc (Lloria, 2009, Ochoa et al., 2013).

*P. aeruginosa* es la especie bacteriana más importante del género *Pseudomonas*, por ser un patógeno nosocomial que se presenta con frecuencia en pacientes críticos de allí su gran importancia clínica. Relacionada en el ambiente hospitalario esta bacteria ha sido aislada de lavatorios, baños, trapeadores, equipos de diálisis, de terapia respiratoria (Streeter y Katouli, 2016) y en algunos casos en instrumental médico: catéteres, estetoscopios, prótesis, soluciones acuosas, desinfectantes, jabones, etc. (Lloria, 2009, Ochoa et al., 2013).

*P. aeruginosa* puede causar infecciones muy severas; en huéspedes inmunodeprimidos (pacientes con cáncer, quemados u hospitalizados en la unidad de cuidados intensivos -UCI-), que incluso, pueden llegar a ser mortales (Shimada & Matsumura, 2014). Causa infecciones principalmente en zonas anatómicas húmedas como ojos, oídos, piel, tracto urinario o tracto respiratorio, teniendo una alta prevalencia en pacientes con fibrosis quística causando infecciones respiratorias crónicas (Uttley et al., 2013).

Este patógeno oportunista es responsable de aproximadamente el 10-15% de las infecciones nosocomiales en humanos, y es especialmente problemática para los pacientes severos en las UCI (Strateva & Yordanov, 2009).

Una revisión de los datos de vigilancia recogidos por la Red Nacional de Seguridad Sanitaria (NHSN) del Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) 2011-2014, muestra que *P. aeruginosa* fue identificada como la segunda causa más común de neumonía asociada al ventilador (16.5%), el tercero más común en infecciones del tracto urinario (10.3%), el quinto por causa de infección del sitio quirúrgico y el décimo más común en infecciones del torrente sanguíneo asociado a línea central (4%) (Weiner et al., 2016). En el 2006-2007 según el Sistema Informático de Resistencia (SIR) *P. aeruginosa* ocupó el tercer lugar (11%) en frecuencia de aislamientos recuperados de pacientes hospitalizados. La mortalidad en infecciones graves por *P. aeruginosa* productora de MBL va del 70% al 95% (Radice et al., 2011).

### 2.2.5. *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes (MDR)

*P. aeruginosa* MDR se define como aquella bacteria que es resistente al menos a 3 o más antibióticos de las siguientes clases: betalactámicos, carbapenémicos, aminoglucósidos y/o fluroquinolonas, y se aísla con frecuencia del ambiente hospitalario. Además, el uso frecuente de antibióticos bajo presión selectiva en pacientes hospitalizados, así como el número de antimicrobianos recibidos, ha sido identificado como un factor de riesgo para la adquisición de multirresistencia de *P. aeruginosa* (Lloria, 2009).

Las elevadas tasas de mortalidad en las infecciones por *P. aeruginosa* son debidas a su alto nivel de resistencia intrínseca a los antimicrobianos, su gran capacidad de desarrollar mecanismos de resistencia a través de mutaciones en su cromosoma y a la posibilidad de adquirir nuevos determinantes de resistencia por transferencia horizontal (Carmen et al., 2011); la resistencia a los agentes antimicrobianos constituye una importante amenaza para la salud pública en todo el mundo; *P. aeruginosa* causa 1 de cada 10 infecciones hospitalarias en los Estados Unidos y figura entre los seis microorganismos fármaco resistentes más peligrosos; más del 15% de las cepas de *P. aeruginosa* aisladas son resistentes a tres o más clases de antibióticos (Hoffmann, Roche y Polyphor, 2013).

Esta especie presenta una alta resistencia intrínseca a varias familias de antibióticos y una extraordinaria capacidad de adquirir nuevos mecanismos de resistencia, tanto por mutaciones en el cromosoma como por transferencia horizontal de determinantes de resistencia, lo que hace muy complicado encontrar alternativas terapéuticas (Juan & Oliver, 2010).

*P. aeruginosa* es resistente, tanto de manera natural como adquirida, a un gran número de antibióticos, como cefalosporinas de primera y segunda generación, tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos. Esto se debe a las características de su membrana celular que tiene propiedades excepcionales de impermeabilidad. La resistencia a los antibióticos usualmente activos sucede en el medio hospitalario. Las cepas pueden transmitirse entre ellas el material genético que induce la resistencia, incluso a partir de otras bacterias Gram negativas como las enterobacterias. Otro factor preocupante es la capacidad de *P. aeruginosa* de tornarse resistente en el curso del tratamiento (Carranza y Vásquez, 2017).

Los mismos antibióticos son capaces de inducir los mecanismos de resistencia que un aislamiento tiene latentes. Otras sustancias como el zinc, componente de una clase de catéteres urinarios, también inducen cambios moleculares que activan la resistencia a imipenem (Martinez, Mercado y Máta, 2005). Se ha evidenciado que en 10.2% de los tratamientos para *P. aeruginosa* emerge una cepa resistente que antes del tratamiento era sensible. Esta inducción de resistencia varía dependiendo de cada antibiótico. Por ejemplo, ceftazidima, una cefalosporina de tercera generación con actividad antipseudomonas, tiene el más bajo riesgo de inducir resistencia en bacterias previamente sensibles a ceftazidima; en contraste, imipenem presenta la más alta tasa de emergencia de resistencia después del tratamiento (Gómez, Leal, Pérez y Navarrete, 2005).

La especie *P. aeruginosa* tiende a desarrollar fenotipos de multirresistencia que junto a la adquisición de la morfología mucóide y la capacidad de formar biopelículas en la mayoría de las superficies biológicas y abióticas, le proporciona ventajas para incrementar sus niveles de resistencia a los antibióticos y protegerse de presiones medioambientales y de la acción del sistema inmune del hospedador dando lugar a grandes problemas clínicos (Juan y Oliver, 2010). Además, en la última década, se ha detectado una alta prevalencia de aislados clínicos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos. Esta familia de antibióticos beta-lactámicos de última generación es utilizada en el tratamiento empírico de infecciones en las que se sospecha la presencia de microorganismos multirresistentes o en las que los pacientes no han respondido previamente a otros antibióticos de amplio espectro (Martínez y Calvo, 2010).

### **2.2.6. Carbapenémicos**

Los antibióticos carbapenémicos son considerados la última línea de terapia efectiva disponible para el tratamiento de infecciones severas; la resistencia a estos antimicrobianos reduce las opciones de terapia clínica y conduce con frecuencia a la falla del tratamiento; además, es un gran problema a nivel mundial ya que estos antibióticos betalactámicos de amplio espectro de acción además de tener un alto costo de tratamiento, son utilizados como último recurso para tratar infecciones potencialmente mortales por bacilos Gram negativos productoras de BLEE, incluyendo a *P. aeruginosa* (Ellington, Kistler, Livermore, y Woodford, 2007; Díaz, 2008; Rojas, 2009; García, Astocondor y Banda, 2012).

#### **2.2.6.1 Resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a carbapenémicos.**

La resistencia a los carbapenémicos en *P. aeruginosa* está dada por la combinación, al menos, de dos mecanismos simultáneos de resistencia, presencia de  $\beta$ -lactamasas y alteraciones de la permeabilidad de membrana dadas por la presencia de bombas de expulsión y las mutaciones de las porinas transmembrana (Rasmussen y Hoiby, 2007). El imipenem tiene la capacidad de seleccionar durante el tratamiento cepas que muestran mutaciones en la porina OprD, que demuestran disminución de la afinidad y el transporte de este antibiótico a través de esta proteína. Estas cepas mutantes muestran un aumento de la concentración mínima inhibitoria (CIM) para imipenem, lo que las hace francamente resistentes a este carbapenémico (Gómez, Leal, Pérez y Navarrete, 2005).

La resistencia a meropenem exige dos mecanismos, la mutación del gen que codifica OprD y la activación de las bombas de expulsión. La mutación del gen OprD se sospecha ante una cepa francamente resistente a imipenem con susceptibilidad reducida o preservada a meropenem y sin afectar a otros betalactámicos, a menos que estén presentes otros mecanismos de resistencia (Gómez, Leal, Pérez y Navarrete, 2005).

Los carbapenémicos tienen una capacidad antimicrobiana que depende de la estructura y tiempo de acción de cada carbapenémico. Estas condiciones hacen que su acción ante las diferentes bacterias sea diferente, se ha descrito que en *P. aeruginosa* el Imipenem es menos bactericida que el Meropenem o Doripenem (Moreno, 2013).



*P. aeruginosa* puede exhibir resistencia tanto en forma disociada a imipenem (IMP) o meropenem (MEM) como también a ambos carbapenémicos simultáneamente. La resistencia sólo a MEM está frecuentemente asociada a la hiperproducción del sistema de eflujo; el mecanismo de resistencia a IMP más común es la impermeabilidad de membrana originada por el déficit de la proteína OprD sumado a la presencia de  $\beta$ -lactamasas cromosómicas tipo AMP-C. La resistencia simultánea a ambos carbapenémicos indica o bien la coexistencia de dichos mecanismos o la producción de enzimas con capacidad de hidrolizarlos, denominadas carbapenemas. Éstas pueden corresponder a serin-enzimas o metalo  $\beta$ -lactamasas (MBL). Las serin-carbapenemasas son enzimas de clase A o D de Ambler y son responsables, en general, de la resistencia a carbapenemas en enterobacterias y *Acinetobacter spp.*, respectivamente (Cejas et al., 2008; Gonzales, 2012; Kathleen et al., 2015).

#### **2.2.7. Mecanismos de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa*.**

Una de las características más preocupantes de *P. aeruginosa* es su elevada capacidad de resistencia a los antibióticos (resistencia intrínseca) y a su gran capacidad de adquirir nuevos mecanismos de resistencia (resistencia extrínseca). (Nicolau & Oliver, 2010; Jimeno, Alcalde, y Blázquez, 2011; Saavedra, Duarte, González y Realpe, 2014). Está comprobado que elevadas tasas de mortalidad en las infecciones por *P. aeruginosa* son debidas a su alto nivel de resistencia intrínseca a los antimicrobianos, su gran capacidad de desarrollar mecanismos de resistencia a través de mutaciones en su cromosoma y a la posibilidad de adquirir nuevos determinantes de resistencia por transferencia horizontal, la resistencia a los agentes antimicrobianos constituye una importante amenaza para la salud pública en todo el mundo, *P. aeruginosa* causa 1 de cada 10 infecciones hospitalarias en los Estados Unidos y figura entre los seis microorganismos fármaco resistentes más peligrosos. Más del 15% de las cepas de *P. aeruginosa* aisladas son resistentes a tres o más clases de antibióticos (Carmen et al., 2011).

Cabe destacar la hiperproducción de la  $\beta$ -lactamasa cromosómica tipo AmpC, que confiere resistencia a todas las penicilinas y cefalosporinas. Es característica también de *P. aeruginosa* la resistencia mediada por la hiperexpresión de los genes de algunas de las múltiples bombas de expulsión y que, dependiendo de la bomba implicada, pueden afectar a prácticamente todos los  $\beta$ -lactámicos, fluoroquinolonas y aminoglucósidos. También existe la represión o inactivación de los genes de la porina OprD, que otorga resistencia a los carbapenemas. Por otro lado, *P. aeruginosa* es capaz de adquirir nuevos determinantes de resistencia por transferencia horizontal. Esta gran capacidad de desarrollar resistencia reduce enormemente el abanico de opciones antibióticas disponible (Viedma, 2014). Esta es la bacteria patógena para humanos que reúne mecanismos de virulencia y panresistencia muy graves (Casellas, 2011).

##### **2.2.7.1 Betalactamasas**

Las  $\beta$ -Lactamasas son enzimas que actúan sobre los betalactámicos. Estos antibióticos inhiben la última etapa de la síntesis de peptidoglucano, por inhibición de la transpeptidasa conocida como proteína ligadoras de penicilina (PBP) (Gómez, Leal, Pérez y Navarrete, 2005). Las  $\beta$ -Lactamasas son capaces de hidrolizar el enlace amida del anillo betalactámico con lo que el

antibacteriano no puede unirse a las PBPs, y, por lo tanto, no se produce el impedimento de la síntesis de la pared celular. La producción de betalactamasas constituye la principal causa de resistencia a los betalactámicos (Casellas, 2011).

*P. aeruginosa* tiene una  $\beta$ -lactamasa AmpC (o clase C) cromosómica y su expresión puede ser inducida por la exposición a los beta lactámicos. La inducción de la  $\beta$ -lactamasa AmpC puede provocar la resistencia tanto al agente microbiano como a otro beta lactámicos (Moreno, 2013).

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE), son otro mecanismo de resistencia en *P. aeruginosa*; son enzimas que viabilizan la resistencia a penicilinas, cefalosporinas de espectro extendido y aztreonam (Lloria, 2009; Ochoa et al., 2013).

#### **2.2.7.2 Disminución de permeabilidad (Inactivación de la porina OprD).**

La permeabilidad de la membrana bacteriana a los antibióticos está determinada por la presencia y cantidad de porinas. La resistencia bacteriana por este mecanismo se da cuando la bacteria deja de sintetizar las porinas que permiten el ingreso de los antibióticos o cambia su estructura (Martínez y Pascual, 2012).

La porina OprD forma un canal transmembrana por el que pueden acceder los carbapenemas y no otros  $\beta$ -lactámicos; la represión o pérdida de la porina OprD está asociada con resistencia a imipenem y sensibilidad reducida a meropenem. Este mecanismo de resistencia es el más comúnmente asociado a la resistencia a imipenem en *P. aeruginosa* (Viedma, 2014).

#### **2.2.7.3 Bombas de expulsión**

Las bombas de expulsión son complejos enzimáticos de membrana, que expulsan de la célula, detergentes y sustancias antipáticas que de otra manera destruirían la bacteria. Antes de la era de los antibióticos, *P. aeruginosa* ya poseía estos complejos enzimáticos. Este complejo llamado MexAB-OprM, se compone de una proteína bomba en la membrana citoplasmática, una proteína ligadora en el espacio periplásmico y un canal de salida en la membrana externa. Tiene la capacidad de expulsar al exterior de la bacteria y contra un gradiente de concentración,  $\beta$ -lactámicos, cloranfenicol, quinolonas, macrólidos, novobiocina, sulfonamidas, tetraciclinas y trimetoprim. Estos sistemas de expulsión son los responsables de la "impermeabilidad" a la mayoría de los antibióticos y tienen también la capacidad de ser inducidas por antibióticos, especialmente ciprofloxacina (Gómez, Leal, Pérez y Navarrete, 2005).

La sobreexpresión de MexAB-OprM, compromete la acción de quinolonas, penicilinas, cefalosporinas e incluso meropenem, pero no imipenem. La sobreexpresión de la bomba, MexEF-OprN, confiere resistencia a quinolonas y algunos  $\beta$ -lactámicos, que incluyen meropenem e imipenem (Pagniez et al, 2006).

### 2.2.8. Carbapenemasas:

Las carbapenemasas representan la familia más versátil de las  $\beta$ -lactamasas. Son enzimas que inactivan a todos los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, como penicilinas, cefalosporinas y a los carbapenemas; para ser activadas necesitan de un ión metálico; o de un grupo serina, según la clasificación de Buch, Jacoby y Medeiros se las ubica en el grupo 1, 2, 3 y según Ambler en la clase molecular A; B; C ; D ; pueden ser inhibidas por el ácido clavulánico o por ácido etilenodiaminotetracético, se les encuentra en bacilos Gram negativos no fermentadores (*Pseudomonas*) y con poca frecuencia en las enterobacterias. (Díaz, 2008).

Se ha propuesto una clasificación en dos grupos: serin carbapenemasas que pertenecen a la clase molecular A o D de Ambler y metalo- $\beta$ -lactamasas (MBL) que corresponden a la clase B de Ambler denominadas así por la dependencia de metales como el zinc para su funcionamiento. Estos grupos difieren en su mecanismo de hidrólisis, el modo de transferencia y la acción de los inhibidores (Moreno, 2013).

Se clasifican en dos familias: las serin carbapenemasas y las metalo  $\beta$ -lactamasas, siendo estas últimas codificadas por elementos genéticos móviles, convirtiéndose en un gran problema en el ambiente hospitalario (Pasteran, 2014).

En *P. aeruginosa* la resistencia a carbapenémicos está asociada a carbapenemasas de clase A, clase B y en menor proporción a la clase D (Oxacilinasas). Las carbapenemasas de la clase A pertenecen al grupo 2f de la clasificación funcional de Bush y comprenden cinco grupos: SME, IMI, NMC, KPC y GES/IBC. En *P. aeruginosa* se han reportado del tipo KPC (KPC- 2 en Colombia y KPC-5 en Puerto Rico y las variantes GES-2 y GES-5, todas de codificación plasmídicas (Gutkind et al., 2013).

Las carbapenemasas de clase B más conocidas como metalo  $\beta$ -lactamasa (MBL), son quizá el grupo más relevante de carbapenemasas en *P. aeruginosa*, tanto por su diversificación en diferentes variantes aminoacídicas, como por su diseminación prácticamente mundial y en diferentes microorganismos. La carbapenemasas de clase D en *P. aeruginosa* detectada es la OXA-40 con capacidad de ser transferible a otras bacterias (Saavedra, Duarte, González y Realpe, 2014).

#### 2.2.8.1 Serino–Carbapenemasas:

Necesitan de serina en el sitio activo para ser activadas, son enzimas de clase A, C y D de Ambler, son responsables, de la resistencia a carbapenémicos en enterobacterias y *Acinetobacter* spp., son sensibles al ácido clavulánico y resistentes al aztreonam. Las Serino – carbapenemasas clase A, comparten las siguientes características, poseen mayor capacidad hidrolítica a imipenem que a meropenem, confieren resistencia al aztreonam, pero no a las cefalosporinas de tercera generación, son inhibidas por el ácido clavulánico, se encuentra en los cromosomas, se puede inducir y se ha encontrado en unas pocas cepas de enterobacterias (Díaz, 2008).

### 2.2.8.2 Metallo Beta-lactamasas (MBL):

Son el grupo más importante de carbapenemasas lo constituyen las metallo-beta-lactamasas pertenecientes a la clase B o grupo 3 de Bush y Jacoby, debido tanto a su diversificación estructural como a su diseminación prácticamente mundial y en diferentes especies bacterianas, son las de mayor importancia clínica y epidemiológica a nivel mundial, debido al alto nivel de resistencia que presentan a los  $\beta$ -lactámicos excepto aztreonam, así como la alta tasa de morbilidad y mortalidad asociada al ambiente hospitalario por la diseminación horizontal que presentan (Moreno, 2013).

Todas las MBL tienen en común, la inhibición por quelantes metálicos como el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido dipicolínico, el mercapto acetato de sodio y requieren de cationes divalentes usualmente el zinc utilizados como cofactores para su actividad enzimática. Además, las MBL no son inhibidas por inhibidores de beta-lactamasas (ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam), ni por ácido 3-aminofenil borónico (APB) (García, Astocondor, y Banda, 2012).

Las enzimas principales son las IMP y VIM que tienen un perfil hidrolítico que incluye todos los antibióticos beta-lactámicos con la excepción del aztreonam y no se inhiben por el ácido clavulánico, sulbactam o tazobactam. Sin embargo, se inhiben por agentes quelantes de cationes divalentes como el EDTA, compuestos tiólicos como el ácido 2-mercaptopropiónico, o el ácido dipicolínico (Díaz, 2008).

Las MBL son enzimas codificadas en el cromosoma o en elementos móviles determinantes de resistencia en *P. aeruginosa*, que hidrolizan diferentes antibióticos beta-lactámicos dejando inactivos a las penicilinas, cefalosporinas y carbapenems. Estas enzimas son codificadas por genes que pueden estar localizados en los casetes génicos dentro de integrones o transposones que a su vez pueden ser transferibles o no, además de coexistir con otros genes que codifican resistencia a otras familias de antibióticos y estas estructuras complejas se pueden integrar al cromosoma bacteriano o en plásmidos, siendo esta una forma de movilización y dispersión horizontal, provocando una alarmante emergencia de bacterias multirresistentes (Rojas, 2009; Nicolau & Oliver, 2010; Radice et al., 2011; Ministerio de Salud, 2014).

La resistencia a los carbapenemas (imipenem, meropenem, doripenem), es un gran problema a nivel mundial ya que estos antibióticos beta-lactámicos de amplio espectro de acción son utilizados como último recurso para tratar infecciones potencialmente mortales por bacilos gram negativos productoras de BLEE, incluyendo *P. aeruginosa*, siendo consideradas como la última opción terapéutica en el tratamiento de infecciones nosocomiales, además de tener un alto costo de tratamiento (Ellington, Kistler, Livermore, & Woodford, 2007, Díaz, 2008; Rojas Larios, 2009, García, Astocondor, & Banda, 2012).

## 2.3 GLOSARIO DE TÉRMINOS BÁSICOS

**Patógenos:** Son agentes infecciosos que pueden provocar enfermedades a su huésped. Este término se emplea normalmente para describir microorganismos como los virus, bacterias y hongos, entre otros.

**Morbilidad:** Cantidad de personas que enferman en un lugar y un período de tiempo determinados en relación con el total de la población.

**Mortalidad:** Los datos de mortalidad indican el número de defunciones por lugar, intervalo de tiempo y causa.

**Nosocomial:** En el ámbito de la salud, una infección nosocomial o intrahospitalaria es la contraída por pacientes ingresados en un recinto de atención a la salud (no solo hospitales).

**Agentes etiológicos:** Se trata del elemento que propicia el desarrollo de una enfermedad. Las bacterias y los virus están entre los agentes etiológicos más comunes.

**Versátil:** Capacidad de algo o alguien de adaptarse con rapidez y facilidad a distintas funciones.

**Plásmidos:** Un plásmido es una pequeña molécula de ADN circular que a menudo se encuentran en bacterias y otras células. Los plásmidos son separados del cromosoma bacteriano y se replican independientemente de ella.

**Integrone:** Un integrón es un fragmento de ADN que codifica una integrasa, una secuencia de recombinación, y promotores propios que dirigen la expresión de sus genes.

**Infecciones intrahospitalarias:** son aquellas que ocurren durante el ingreso y la estancia hospitalaria del paciente y son causadas por gérmenes propios del hospital.

**Microbiota:** Se define como los microorganismos que son frecuentemente encontrados en varias partes del cuerpo, en individuos sanos.

**Pigmentos:** Sustancia colorante que se encuentra en las células de los seres vivos.

**Piocianina:** La piocianina es un alcaloide fenazínico que constituye una de las muchas toxinas producidas y secretadas por la bacteria Gram negativa *P. aeruginosa*.

**Pioverdina:** Son sideróforos fluorescentes producidos por ciertas *Pseudomonas*.

**Piorrubina:** es un alcaloide fenazínico que constituye una de las muchas toxinas producidas y secretadas por la bacteria Gram negativa *P. aeruginosa*.

**Piomelanina:** Pigmento que se le atribuye función bactericida.

**Sideróforos:** es un compuesto quelante de hierro secretado por microorganismos.

**Porinas:** son proteínas con estructura barril  $\beta$  formadas por láminas  $\beta$ . Pertenecen a las proteínas integrales de membrana, que son las que se ubican a través de una membrana celular y funcionan como poros a través de los cuales las moléculas se pueden difundir.

## **2.4. HIPÓTESIS**

La frecuencia de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos es de 30 %, de pacientes del hospital Cayetano Heredia Piura, Perú.

## **CAPÍTULO III: MARCO METODOLOGICO:**

### **3.1 ENFOQUE Y DISEÑO:**

- ✓ **Enfoque:** Cuantitativo no experimental.
- ✓ **Diseño:** Descriptivo.

### **3.2 SUJETO DE INVESTIGACION:**

#### **3.2.1. Población**

Estuvo conformada por los pacientes que asistieron al Hospital Regional José Cayetano Heredia de Piura, entre noviembre de 2017 y setiembre de 2018.

#### **3.2.2. Muestra**

Estuvo conformada por especímenes biológicos de distinto origen tomados del mismo número de pacientes que asistieron al Hospital Regional Cayetano Heredia de Piura, Perú, entre noviembre de 2017 y setiembre de 2018.

### **3.3 MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS**

#### **3.3.1. Obtención y transporte de muestra.**

Todas las cepas de *P. aeruginosa* fueron obtenidas de diferentes especímenes biológicos como aspirado endotraqueal, orina, secreción de herida, esputo, secreción bronquial y sangre correspondientes a pacientes de consulta externa y hospitalizados de los diferentes servicios tales como medicina interna, cirugía, cardiología, pediatría, urología, UCI y emergencia del hospital Regional Cayetano Heredia (HRCH) Piura, Perú, durante los meses de noviembre de 2017 a setiembre de 2018; las cuales fueron conservadas en microviales con glicerol y caldo BHI al 15 %, hasta el momento de realizar los métodos fenotípicos de detección de carbapenemasas.

#### **3.3.2. Procesamiento de la muestra**

Las muestras biológicas fueron colectadas por los pacientes, técnicos y médicos del HRCH, según el tipo de muestras.

Éstas ingresaron al laboratorio de microbiología del HRCH; luego, fueron procesadas mediante las técnicas de aislamiento convencionales descritas en el manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias (Sacaquispe & Ventura, 2001), anotándose los datos de cada aislamiento en una hoja de recolección de datos.

Sólo se consideraron las placas en donde hubo crecimiento bacteriano de la cuales se consideraron las placas de colonias sospechosas de *P. aeruginosa*, de las cuales se procedió a realizar un cultivo puro en placas con agar McConkey con la ayuda de un asa plástica estéril de un solo uso; se sembró en la placa por método de agotamiento y se incubó a 35°C- 37°C por 24 horas, para su identificación por el equipo automatizado MicroScan walk away 96 plus.

### **3.3.3. Agentes Antimicrobianos:**

Los carbapenémicos (imipenem y meropenem) evaluados son los que se encuentran en el panel para bacterias Gram negativos (NUC 69) para la identificación de bacterias por el método automatizado MicroScan; los discos de carbapenémicos para la prueba de sinergismo con doble disco de difusión y EDTA fueron de la marca Bioanalyse adquiridos de laboratorios comerciales.

### **3.3.4. Susceptibilidad Antibiótica:**

La Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) fue determinada utilizando el sistema automatizado MicroScan, teniendo en cuenta los puntos de corte recomendados para *P. aeruginosa* por la norma del (Clinical and Laboratory Standards Institute) CLSI año 2018, tanto para imipenem (IMP) como para meropenem (MEM), fue sensible cuando se obtuvo un MIC menor o igual a 2 ug/ml, intermedio 4 ug/ml y resistente igual o mayor 8 ug/ml.

También se determinó la susceptibilidad por el método de difusión en disco, con discos de IMP de 10 ug y de MEM de 10 ug de potencia, se tomaron en cuenta los puntos de corte recomendados por el CLSI para el IMP como para el MEM, fue sensible cuando los halos de inhibición fueron igual o mayor a 19 mm, Intermedio igual a 16 y 18 mm y resistente cuando los halos inhibición eran igual o menor a 15 mm (CLSI. 2018).

### **3.3.5. Identificación bacteriana.**

Para la identificación de *P. aeruginosa* se utilizó el equipo automatizado MicroScan walk away 96 plus y los paneles de identificación para Gram negativos (NUC 69); en un tiempo máximo de 18 a 24 horas. Según el manual de procedimientos para Gram-Negativos Deshidratados (Beckman, 2015).

#### **3.3.5.1 Para la preparación de los paneles**

Se sacó el panel del refrigerador, se abrió la bolsa de empaque, se sacó el panel inmediatamente y se dejó que alcance la temperatura ambiente antes de la rehidratación.

Para la preparación del inóculo, se sacó una muestra de la placa de agar y se emulsionó en 3 ml de agua para inóculo (agua des ionizada esterilizada). Cada suspensión se comparó y fue equivalente al patrón de turbidez de levaduras de MicroScan, aproximadamente 0.7-0.9 de la escala de Mc Farland y se mezcló la suspensión hasta que fue homogénea.



Se uso el inoculador rehidratante RENOK para rehidratar e inocular simultáneamente 96 pocillos de paneles de ID, AST y Combo de MicroScan.

Para la inoculación del panel, se rotuló en el panel el número de muestra, se añadió 100 ul de suspensión de la bacteria en cada pocillo del panel utilizando el inoculador rehidratante RENOK para rehidratar e inocular simultáneamente 96 pocillos de paneles de ID.

Se incubó los paneles inoculados durante 18 a 24 horas a 35-37C° en una incubadora sin CO2.

### **3.3.5.2 La lectura de los paneles**

Se realizó después de 18 a 24 horas de incubación; el sistema del equipo MicroScan añadió los reactivos (IND, TDA, VP-1 VP-2, NIT-1, NIT-2) en dichos pocillos se desarrolló el color (reacción), se realizó la lectura durante minutos posteriores a la adicción de los reactivos.

Para la interpretación de las pruebas se observa mediante las reacciones en los sustratos, siendo este el paso final con el que se identificó las especies de *P. aeruginosa*.

En el panel que se utilizó, hubieron pruebas convencionales y cromogénicas modificadas, en base a la detección de cambios de pH, utilización de diversos sustratos (fermentación de carbohidratos como glucosa, sacarosa, sorbitol, rafinosa, arabinosa, inositol, melobiosa; úrea; producción de H<sub>2</sub>S (sulfhídrico), de indol; descarboxilación de lisina, arginina, ornitina; triptófano deaminasa (TDA); Voges-Proskauer (VP), galactosidasa (ONPG); citrato, malonato, acetamida, tartrato; nitrato) y crecimiento en presencia de antimicrobianos (penicilina, kanamicina, colistina, cefalotina, nitrofurantoína y tobramicina).

Además, para distinguir a las Enterobacteriaceae, que son oxidasa negativa, de las Pseudomonadaceae, que son oxidasa positiva, se realizó la prueba de oxidasa que tiene por objetivo la determinación de las enzimas oxidasas.

**Prueba de la Oxidasa:** prueba de identificación donde se deposita una colonia bacteriana sobre la superficie de la tira comercial impregnada con el reactivo. La reacción se considera positiva cuando transcurridos aproximadamente 10-20s vira a un color morado. Las bacterias del género *Pseudomonas* son positivas para esta prueba.

La reacción de la oxidasa se debe a un sistema citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular el que actúa como un aceptor de electrones en la fase final del sistema de transferencia de electrones. Se utilizaron tiras reactivas con reactivo de Kovacs (tetrametil-p-fenilendiamina al 1 %) que es incoloro. Cuando la reacción es positiva, la zona de prueba cambia hasta un color púrpura.

### **3.3.6. Determinación de las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos.**

### **3.3.6.1 Prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método automatizada (CMI).**

La Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) fue determinada utilizando el sistema automatizado MicroScan, teniendo en cuenta los puntos de corte recomendados para *P. aeruginosa* por la norma del (Clinical and Laboratory Standards Institute) CLSI año 2018, tanto para imipenem (IMP) como para meropenem (MEM), fue sensible cuando se obtuvo un MIC menor o igual a 2 ug/ml, intermedio 4 ug/ml y resistente igual o mayor 8 ug/ml.

### **3.3.6.2 Prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método difusión en agar, según Kirby Bauer.**

A partir de un cultivo puro de *P. aeruginosa* se seleccionó una colonia aislada y se preparó una suspensión bacteriana con solución salina fisiológica a una turbidez que correspondió al tubo 0.5 de la escala de Mac Farland. Con ayuda de un hisopo de algodón estéril, se sembró esta suspensión sobre toda la superficie de una placa Petri de 90 mm con agar Mueller-Hinton en direcciones diferentes, rotando la placa con giros de 60°; se dejó reposar cinco minutos para que cualquier exceso de humedad superficial se evaporare.

Seguidamente, con una aguja estéril se colocó en la superficie del agar apretando suavemente un disco de IMP, MEM y CAZ de 10 µg cada uno a una distancia mínima de 25 mm uno del otro. El medio de cultivo se incubó a 36°C de 18 a 24 horas; luego, se procedió a la lectura de cada placa y se midió los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco. Para la interpretación de la prueba de susceptibilidad a IMP, MEM y CAZ, se utilizó el criterio del tamaño de la zona de inhibición de crecimiento (CLSI, 2018), considerándose susceptible un tamaño de la zona de inhibición mayor a 19 mm, intermedio de 16 a 18 mm y resistentes, menor a 15 mm para ambos antimicrobianos, y se complementa con un halo de ceftazidima menor a 14 mm.

### **Criterios de selección de *Pseudomonas aeruginosa* probable productora de carbapenemasas.**

Se realizó la observación del halo de inhibición a meropenem (MEM) y ceftazidima (CAZ). Las cepas productoras de carbapenemasas obtuvieron un halo de inhibición a meropenem menor o igual a 23 mm; este punto de corte epidemiológico coincide con el punto de corte de “no sensible” (intermedio a resistente). Este criterio de tamizaje se complementó con un halo de inhibición de ceftazidima menor o igual a 22mm.

Para el test confirmatorio se seleccionaron aquellos cultivos de *P. aeruginosa* resistente o intermedio para al menos a uno de los carbapenémicos (IPM y MEM) y además que fueran resistentes o intermedios a CAZ.

Una vez que se determinó la susceptibilidad a IPM y MEM se realizó dos métodos fenotípicos (del doble disco de difusión (MDD) con EDTA (750 µg) y discos combinados con EDTA) para determinar si la resistencia a carbapenémicos es debido a la presencia de una enzima del tipo metalo β-lactamasas.

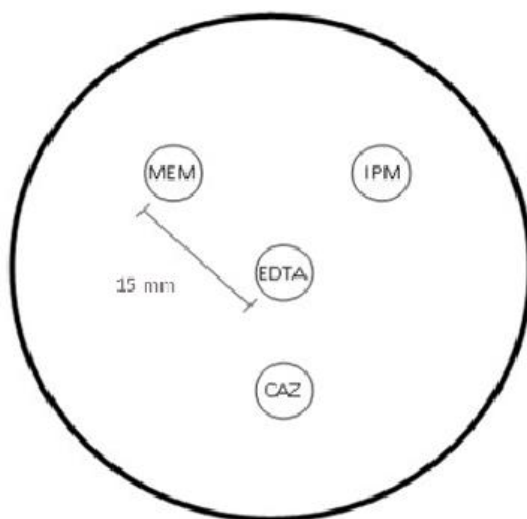
### 3.3.7. Detección de Metallo-β-lactamasas.

#### 3.3.7.1 Prueba de sinergismo con doble disco de difusión y EDTA para la detección de carbapenemasas del tipo metallo-β-lactamasas (DDST).

Este método fue descrito por Arawaka et al., 2000; y se basa en que las MBL necesitan como cofactor en la reacción iones metálicos como el  $Zn^{+2}$ ; el EDTA es un agente quelante que posee la capacidad de atrapar estos iones metálicos y, por consiguiente, inhibir la acción de la enzima, por lo que en esta prueba se recurrió al EDTA como inhibidor de MBL.

Se utilizó una placa de agar MH de 4 mm de grosor; esta placa fue sembrada con un inóculo estandarizado (0,5 Mc Farland), con ayuda de un hisopo, se estrió en tres direcciones en la placa para asegurar una distribución uniforme del inóculo teniendo en cuenta que, para colocar los discos de IMP, MEM y EDTA, se dejó secar dicha placa a temperatura ambiente durante cinco minutos para que cualquier exceso de humedad artificial se evapore; luego, se colocó el disco de EDTA y a cada lado del disco de EDTA un disco de IMP y MEM a una distancia de 15 mm centro a centro.

En el antibiograma inicial para *P. aeruginosa* el disco de EDTA se colocó a 15 mm de centro a centro de los discos de IMP y MEM. En caso, que el halo de IMP fuese de 6 mm, se repitió la prueba de sinergia con distancias ajustadas en una placa complementaria. Por ejemplo, si  $IMP = MEM = 6$  mm, las distancias serían:  $3 + 3 + 5$  mm = 11 mm de centro a centro. Una vez colocados los discos, se procedió a incubar la placa a 37°C de 18 a 24h.



**Figura 3 1.** Representación esquemática de la colocación de los discos para la prueba de sinergia de doble disco.

IMP: imipenem; MEM: meropenem; CAZ: ceftazidima; EDTA: ácido etilendiaminotetraacético.

Modificado de: Prueba de Sinergia de doble disco (DDS). (Yauri, 2016).

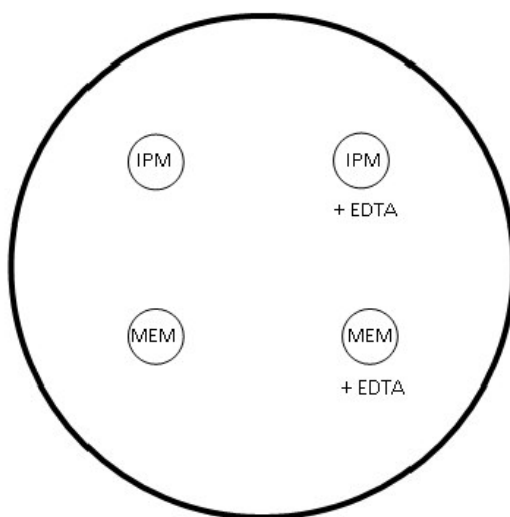
La lectura de la prueba se realizó después de las 24 horas de incubación. Una prueba positiva consistió en la observación del agrandamiento de la zona de inhibición del desarrollo de la cepa investigada alrededor de los discos de imipenem o meropenem hacia el disco de EDTA; a este efecto de agrandamiento comúnmente se le llama “efecto huevo”.

Se consideró una prueba negativa cuando no hubo agrandamiento de la zona de inhibición del desarrollo de la cepa analizada alrededor de los discos de IMP y MEM hacia el disco de EDTA; el resultado de estas lecturas fue registradas en las hojas de trabajo de cada cepa bacteriana para su análisis posterior. En los casos positivos, se interpretó como que el microorganismo produjo la enzima carbapenemasa tipo Metallo  $\beta$ -lactamasa.

### 3.3.7.2 Prueba con discos combinados con inhibidor (EDTA).

Se realizó en las placas preparadas de agar MH (150 mm) de 4 mm de espesor y pH entre 7,2 y 7,4. Se utilizaron los mismos aislamientos de la prueba de DDST. Se seleccionaron colonias aisladas y se realizó una suspensión ajustada en el nefelómetro de Mc Farland a nivel de 0,5 agitada por vortex.

Se introdujo el hisopo estéril en dicha suspensión, se rotó varias veces presionándolo firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel líquido para remover el exceso de inóculo; acto seguido, se estrió sobre la superficie de la placa. Pasado un promedio de 5 minutos de secado de la placa se colocaron los discos de IMP, MEM, IMP/EDTA (750 ug) y MEM/ EDTA (750 ug); luego, se incubó por 24 horas; finalmente, se realizó la lectura considerando positivo cuando la diferencia de los halos del IMP y EDTA/IMP fue mayor o igual a 5 mm; así también para MEM y EDTA/MEM.



**Figura 3 2.** Representación esquemática de la colocación de los discos para la prueba de discos combinados con inhibidor EDTA.

IMP: imipenem; MEM: meropenem; EDTA: ácido etilendiaminotetraacético.

Fuente: Prueba de Discos combinados con inhibidor (EDTA) (Yauri, 2016).

Finalmente, se determinó el fenotipo de resistencia y se separó en dos grupos, los sensibles a los carbapenemas (SC) y los resistentes a los carbapenemas (RC).

Se consideraron *P. aeruginosa* productoras de carbapenemasas positivas a aquellas que dieron resultados positivos en alguno de los dos métodos usado

### **3.3.8. Conservación de Cepas Positivas:**

Las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* positivas a metalo- $\beta$ - lactamasas fueron sembradas en viales con glicerol y BHI al 15 % y congeladas a -30°C para potenciales estudios posteriores.

### **3.3.9. Procesamiento y Análisis de Datos**

La información fue recogida de los resultados de los diferentes especímenes que cumplían los criterios de inclusión planteados, tanto de pacientes hospitalizados como de consulta externa, colectadas durante el periodo de noviembre de 2017 a septiembre de 2018. Los datos fueron ingresados en una base de datos, para lo cual se utilizó Microsoft Excel XP Profesional 2017 y SPSS versión 13.0.

## **3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS**

- ✓ Técnicas de muestreo: simple, de oportunidad.
- ✓ Técnicas de recolección de datos: de laboratorio.
- ✓ Instrumentos de recolección de datos: ficha de recolección de datos.
- ✓ Instrumentos de análisis de datos: con Microsoft Excel 2013.

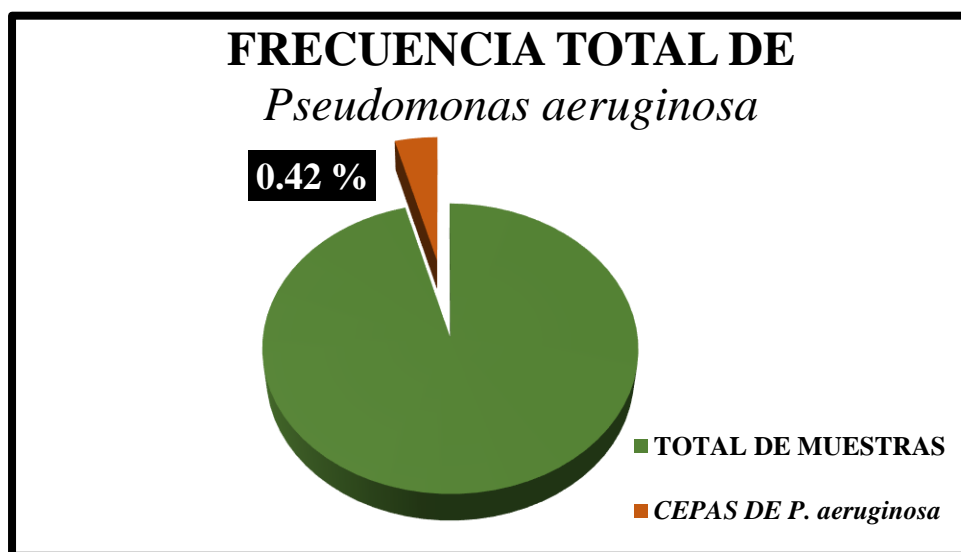
## **3.5 ASPECTOS ÉTICOS**

Los aislamientos de *P. aeruginosa* se obtuvieron de muestras clínicas procedentes de pacientes hospitalizados y ambulatorios, a los cuales se les realizó el cultivo microbiológico como parte de los procedimientos clínicos habituales en el laboratorio de microbiología del HRCH, por lo cual no se solicitó la autorización de los pacientes. Durante la realización del trabajo de investigación los datos de identificación de las cepas aisladas se manejaron de forma confidencial.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 RESULTADOS

Se aisló 60 cepas de *P. aeruginosa* entre noviembre de 2017 a septiembre de 2018 de pacientes hospitalizados y ambulatorios del Hospital Regional José Cayetano Heredia Piura, Perú. En ese periodo se analizaron alrededor de 14 400 muestras de orinas, secreciones endotraqueales, secreciones bronquiales, secreciones de heridas y sangre (Gráfico 4.1)



**Gráfico 4. 1.** Frecuencia total de *P. aeruginosa* de pacientes que asistieron al Hospital Regional José Cayetano Heredia, Piura, Perú, de noviembre 2017 a setiembre de 2018.

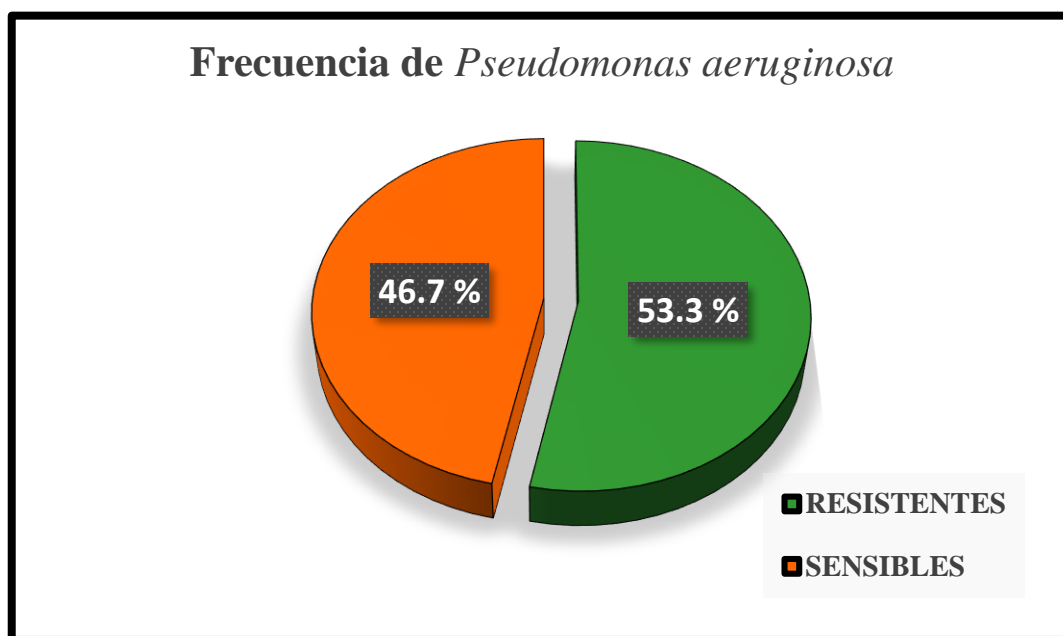
Fuente: Elaboración propia.

De las 60 cepas de *P. aeruginosa*, 32 (53.3 %) fueron resistentes a carbapenémicos, mientras que 28 (46.7 %) no lo fueron (tabla 4.1; gráfico 4.2).

**Tabla 4. 1.** Frecuencia de aislamientos de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
<b>RESISTENTES</b>	32	53.3
<b>SENSIBLES</b>	28	46.7
<b>Total</b>	60	100.0

Fuente: Elaboración propia.



**Gráfico 4. 2.** Frecuencia de aislamientos de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

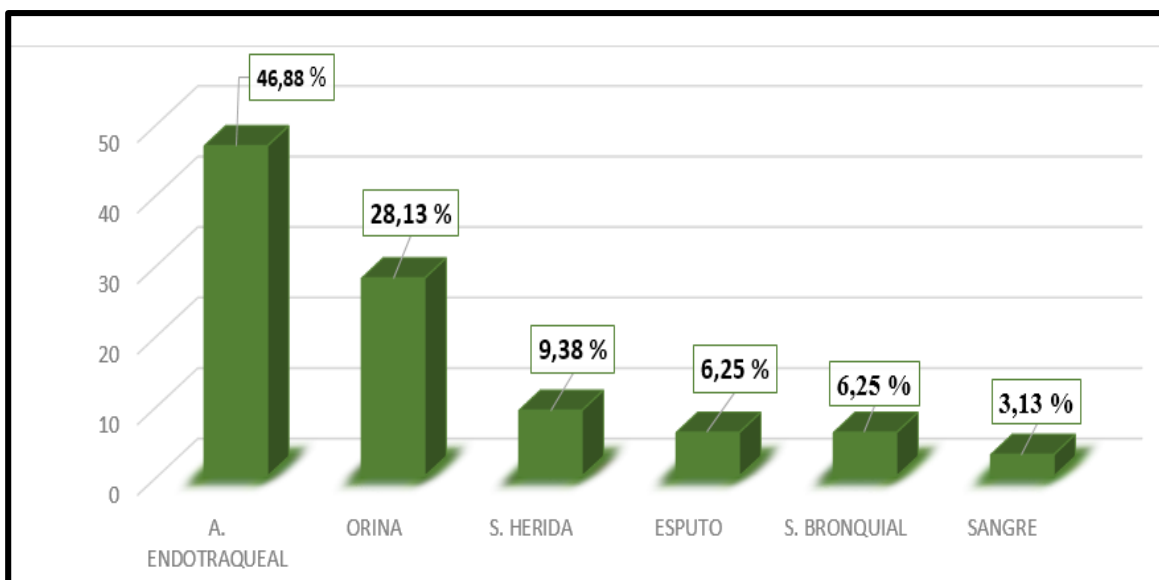
Fuente: Elaboración propia.

Según el tipo de muestra, de los 32 aislamiento de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos fueron los aspirados bronquiales de donde se obtuvieron con una frecuencia de 15 cultivos (46.88 %), seguidas de muestras de orina 9 (28.13 %) y con menor frecuencia las muestras de sangre con 1 (3.13 %) (tabla 4.2; gráfico 4.3).

**Tabla 4. 2.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos según el tipo de muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

TIPO DE MUESTRA	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
ASPIRADO ENDOTRAQUEAL	15	46.88
ORINA	9	28.13
SECRECIÓN DE HERIDA	3	9.38
ESPUTO	2	6.25
SECRECIÓN BRONQUIAL	2	6.25
SANGRE	1	3.13
TOTAL	32	100.0

Fuente: Elaboración propia.



**Gráfico 4. 3.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos según el tipo de muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.  
Fuente: Elaboración propia.

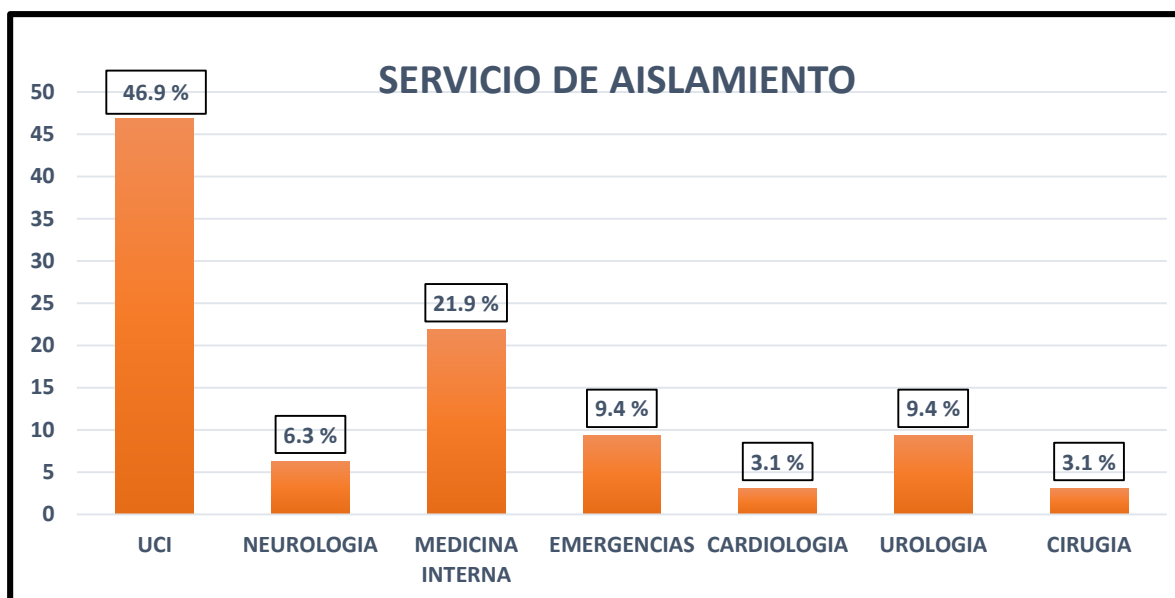
Según el servicio hospitalario, de los 32 aislamientos de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos fue UCI donde hubo una frecuencia de 15 especímenes (46.9 %) y con menor frecuencia en cirugía con un cultivo (3.1 %) (tabla 4.3; gráfico 4.4).

**Tabla 4. 3.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos según el servicio de aislamiento de la muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

SERVICIO	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
UCI	15	46.9
NEUROLOGIA	2	6.3
MEDICINA INTERNA	7	21.9
EMERGENCIAS	3	9.4
CARDIOLOGIA	1	3.1
UROLOGIA	3	9.4
CIRUGIA	1	3.1
TOTAL	32	100.0

Fuente: Elaboración propia.





**Gráfico 4. 4.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos según el servicio de aislamiento de la muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

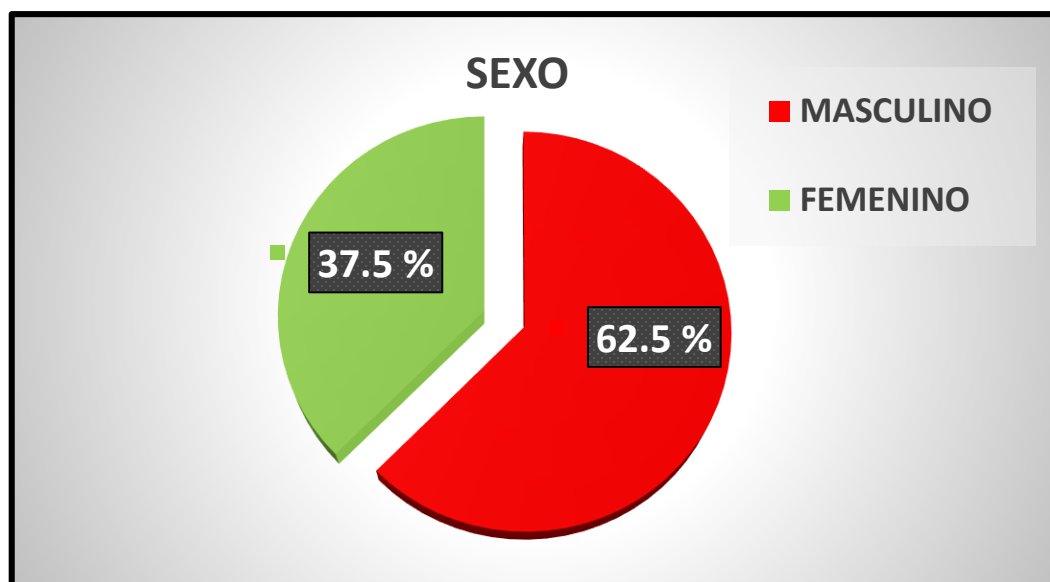
Fuente: Elaboración propia.

Según el sexo de los pacientes, de los 32 aislamientos de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos obtenidos, fueron los pacientes masculinos de donde se demostró una frecuencia de 20 (62.5 %) y con menor frecuencia, del sexo femenino con 12 cultivos (37.5 %) (tabla 4.4; gráfico 4.5).

**Tabla 4. 4.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* resistente a carbapenémicos según el sexo del paciente del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

SEXO	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
FEMENINO	12	37.5
MASCULINO	20	62.5
TOTAL	32	100.0

Fuente: Elaboración propia.



**Gráfico 4. 5.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos según el sexo del paciente del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

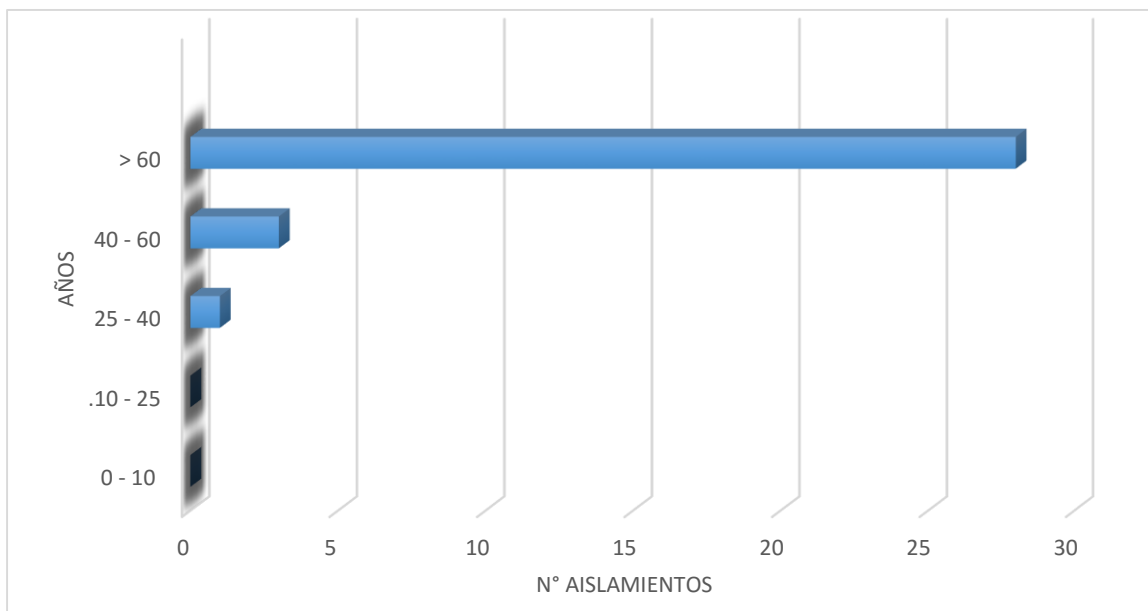
Fuente: Elaboración propia.

Según la edad de los pacientes, de los 32 aislamientos de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos obtenidas los de 60 años mostraron una frecuencia de 28 cultivos (87.50 %) y con menor frecuencia los de 0 a 10 años, con ningún espécimen (00.00 %) (tabla 4.5; gráfico 4.6).

**Tabla 4. 5.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos según la edad del paciente en Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

AÑOS	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
0 – 10	00	00.00
10 – 25	00	00.00
25 – 40	01	3.13
40 – 60	03	09.37
➤ 60	28	87.50
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>100.0</b>

Fuente: Elaboración propia.



**Gráfico 4. 6.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos según la edad del paciente en Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

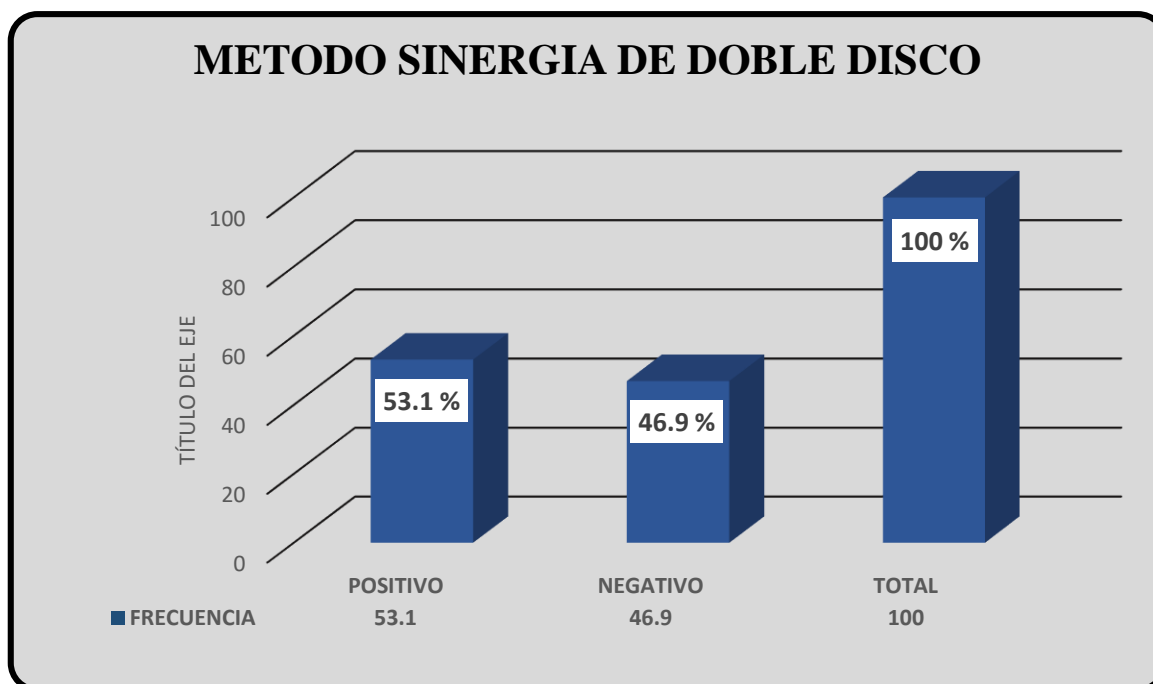
Fuente: Elaboración propia.

De los 32 aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos y sospechosos de secretar enzimas carbapenemasas, 17 (53.1 %) fueron productores de metalo- $\beta$ -lactamasas según el método de sinergia de doble disco (DDS) (tabla 4.6; gráfico 4.7).

**Tabla 4. 6.** Cepas de *P. aeruginosa* productoras de carbapenemasas de tipo MBL por el método de sinergia de doble disco (DDS) en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

SINERGIA	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
POSITIVO	17	53.1
NEGATIVO	15	46.9
Total	32	100.0

Fuente: Elaboración propia.



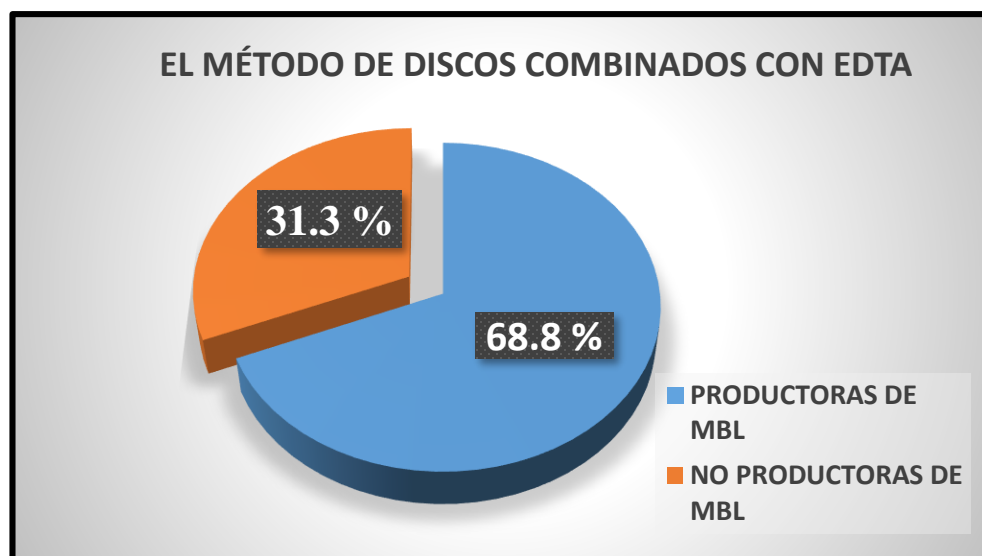
**Gráfico 4. 7.** Cepas de *P. aeruginosa* productoras de carbapenemasas de tipo metalo  $\beta$ -lactamasas por el método de sinergia de doble disco (DDS) en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.  
Fuente: Elaboración propia.

De otro lado, de los 32 aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos y sospechosos de secretar enzimas carbapenemasas, por el método de discos combinados con EDTA (DC) se encontró que la frecuencia fue de 22 (68.8 %) productoras de carbapenemasas de tipo metalo  $\beta$ -lactamasas (tabla 4.7; gráfico 4.8).

**Tabla 4. 7.** Cepas de *P. aeruginosa* productoras de carbapenemasas de tipo MBL por el método de discos combinados con EDTA, en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
PRODUCTOR DE MBL	22	68.8
NO PRODUCTOR DE MBL	10	31.3
TOTAL	32	100.0

Fuente: Elaboración propia.



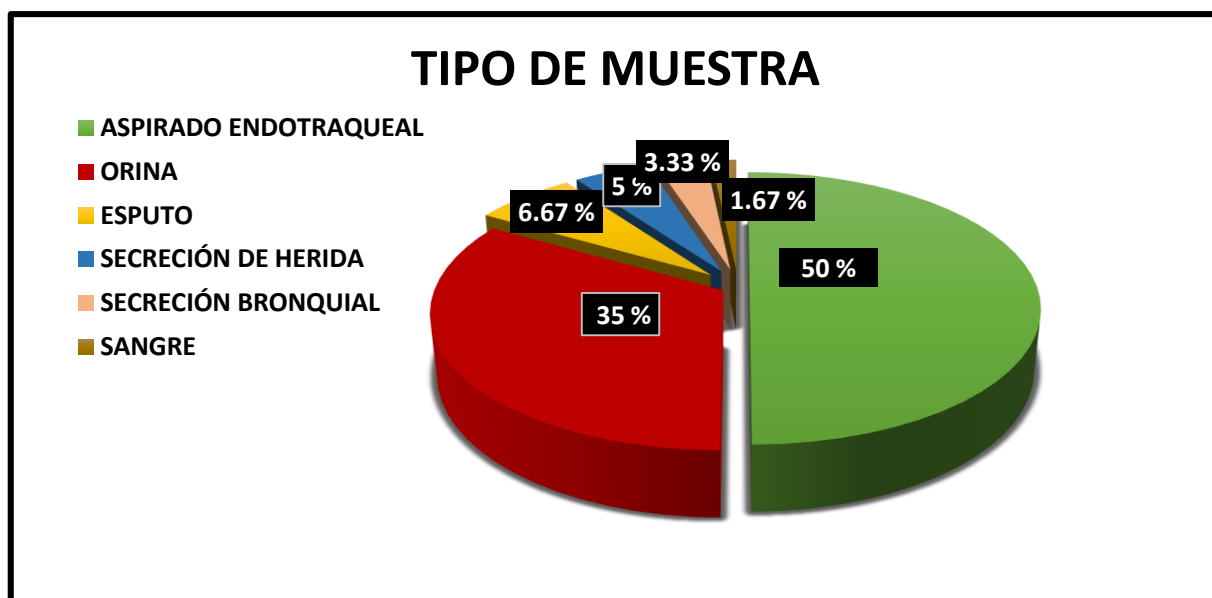
**Gráfico 4. 8.** Cepas de *P. aeruginosa* productoras de carbapenemasas de tipo metalo  $\beta$ -lactamasas por el método de discos combinados con EDTA en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.  
Fuente: Elaboración propia.

Según el tipo de muestras, de los 60 aislamientos de *P. aeruginosa* la de mayor frecuencia fue el de aspirado bronquial con 30 especímenes (50 %), seguidas de muestras de orina 20 (33.33 %) y con menor frecuencia las muestras de sangre con 1 (1.67 %) (tabla 4.8; gráfico 4.9).

**Tabla 4. 8.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* según el tipo de muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

TIPO DE MUESTRA	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
ASPIRADO ENDOTRAQUEAL	30	50.00
ORINA	20	33.33
ESPUTO	4	6.67
SECRECIÓN DE HERIDA	3	5.00
SECRECIÓN BRONQUIAL	2	3.33
SANGRE	1	1.67
Total	60	100.0

Fuente: Elaboración propia.



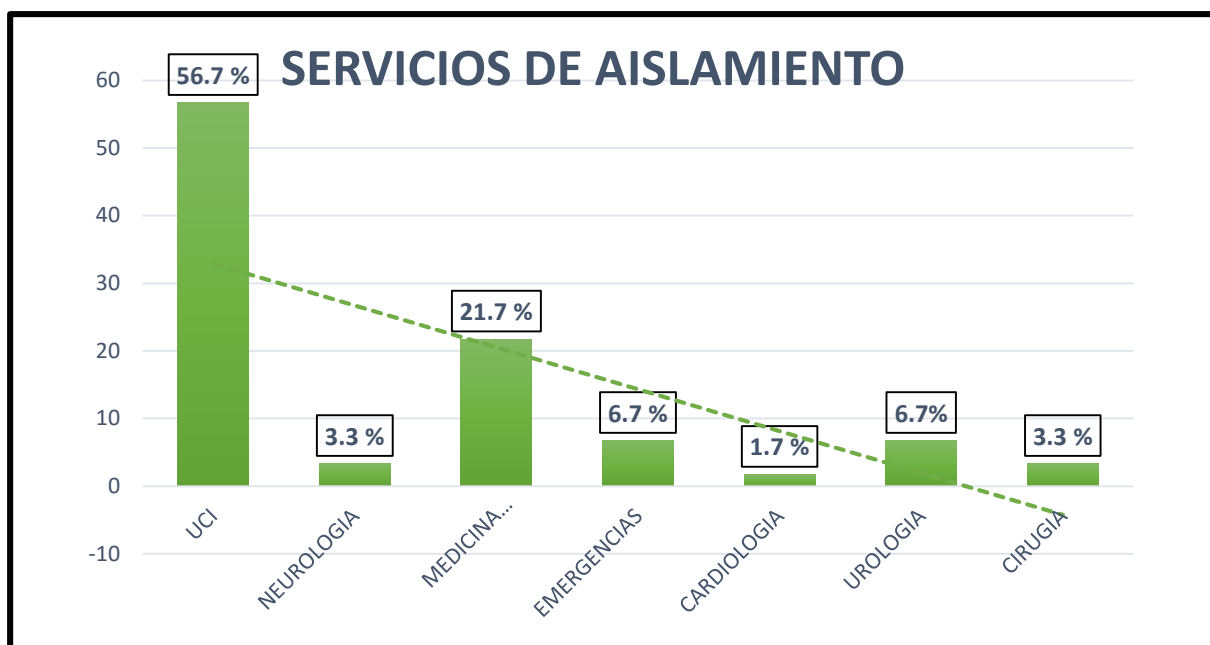
**Gráfico 4. 9.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* según el tipo de muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.  
Fuente: Elaboración propia.

Según la unidad de servicio del hospital, de los 60 aislamientos de *P. aeruginosa* obtenidas fue UCI la de mayor frecuencia con 34 especímenes (56.7 %) y con menor frecuencia en cirugía con sólo 2 (3.3 %) (tabla 4.9; gráfico 4.10).

**Tabla 4. 9.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* según el tipo de muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

SERVICIO	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
UCI	34	56.7
NEUROLOGIA	2	3.3
MEDICINA INTERNA	13	21.7
EMERGENCIAS	4	6.7
CARDIOLOGIA	1	1.7
UROLOGIA	4	6.7
CIRUGIA	2	3.3
TOTAL	60	100.0

Fuente: Elaboración propia.



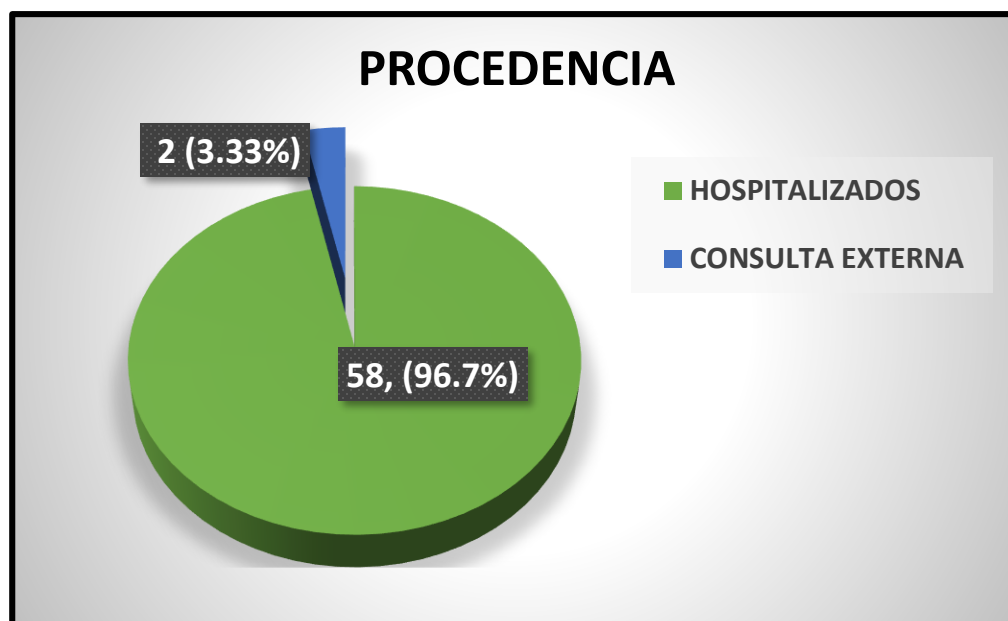
**Gráfico 4. 10.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* según el servicio de aislamiento de la muestra en pacientes del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.  
Fuente: Elaboración propia.

Según la procedencia de los pacientes, de los 60 aislamientos de *P. aeruginosa* fueron los hospitalizados de donde se obtuvieron las bacterias con mayor frecuencia, 58 (96.7 %) y con menor frecuencia, los de consulta externa con dos aislamientos (3.3 %) (tabla 4.10; gráfico 4.11).

**Tabla 4. 10.** Frecuencia de aislamientos de *P. aeruginosa* según procedencia del paciente en el Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

PROCEDENCIA	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
HOSPITALIZADOS	58	96.7
CONSULTA EXTERNA	2	3.3
TOTAL	60	100.0

Fuente: Elaboración propia.



**Gráfico 4. 11.** Frecuencia de aislamientos de *P. aeruginosa* según procedencia del paciente en el Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

Fuente: Elaboración propia.

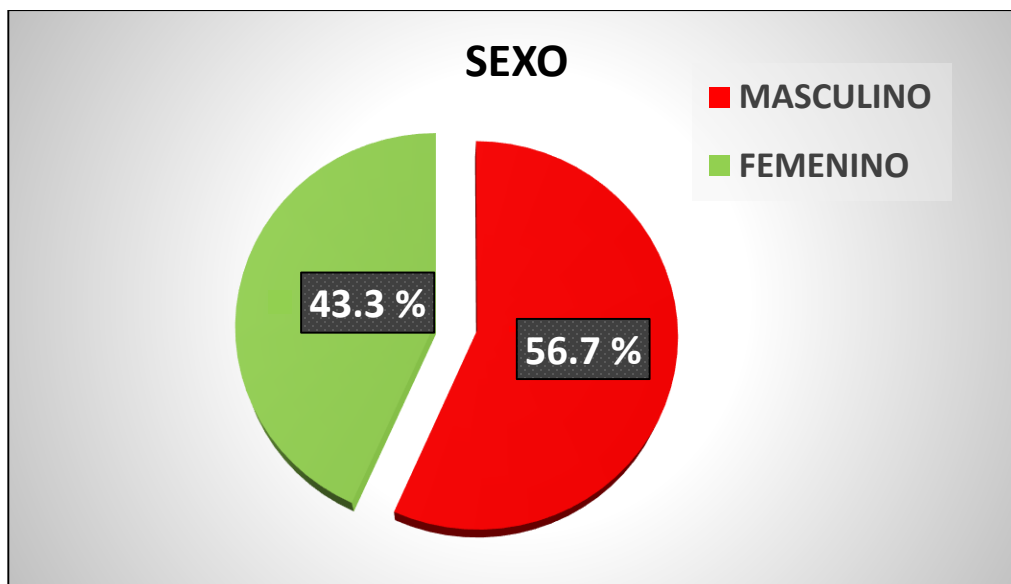
Según el sexo de los pacientes, de los 60 aislamientos de *P. aeruginosa* del sexo masculino se obtuvieron 34 aislamientos (56.7 %) y a partir del sexo femenino, 26 (43.3 %) (tabla 4.11; gráfico 4.12).

**Tabla 4. 11.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* según el sexo del paciente del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

SEXO	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
FEMENINO	26	43.3
MASCULINO	34	56.7
TOTAL	60	100.0

Fuente: Elaboración propia.





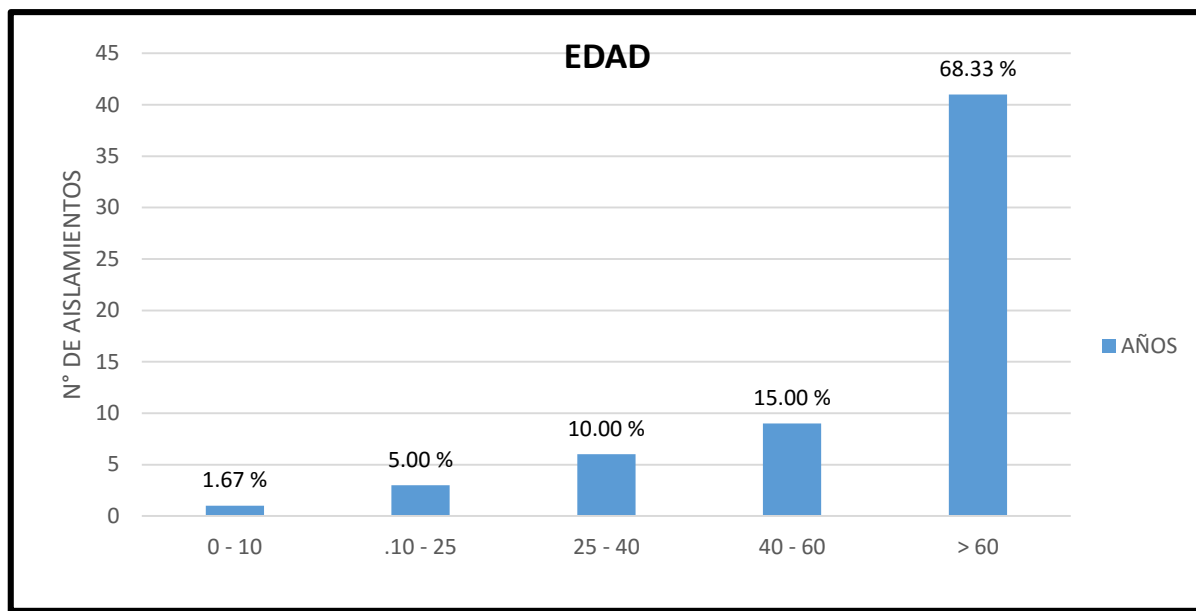
**Gráfico 4. 12.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* según el sexo del paciente del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.  
Fuente: Elaboración propia.

Según la edad de paciente, de los 60 aislamientos de *P. aeruginosa* obtenidas fue mayor la frecuencia en pacientes de 60 años con 41 especímenes (68.33 %) y con menor frecuencia, de 0 a 10 años con un cultivo (1.67 %) (tabla 4.12; gráfico 4.13).

**Tabla 4. 12.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* según la edad del paciente del Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.

AÑOS	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)
0 – 10	01	1.67
10 – 25	03	5.00
25 – 40	06	10.00
40 – 60	09	15.00
➤ 60	41	68.33
Total	60	100.0

Fuente: Elaboración propia.



**Gráfico 4. 13.** Frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* según la edad del paciente en Hospital Regional Cayetano Heredia, Piura, Perú.  
Fuente: Elaboración propia

## 4.2 DISCUSIÓN

*P. aeruginosa* es uno de los patógenos oportunistas humanos más importantes del género *Pseudomonas* (Nicolau & Oliver, 2010), caracterizado por su alta virulencia y mortalidad. Tradicionalmente considerado como un patógeno oportunista asociado a múltiples infecciones (Gonzales et al., 2013), sin embargo, su resistencia a los antibióticos ha empezado a emerger en varios lugares del mundo y ha involucrado mecanismos de resistencia, entre ellos la producción de enzimas que hidrolizan carbapenemas. Y debido a la importancia y las demandantes infecciones por *P. aeruginosa* que se presentan a nivel hospitalario y más aún el notable crecimiento de resistencias microbianas por dicha bacteria, se creó la necesidad de realizar esta investigación el cual conto con un total de 60 muestras de *P. aeruginosa*, procedentes del área de microbiología del servicio de Laboratorio Clínico del hospital regional José Cayetano Heredia.

En 2009 en un hospital de Bogotá, Colombia, se aisló 4,9% de cepas de *P. aeruginosa* (Villa et al., 2013) y en Santiago de Cali, Colombia, se encontró 6,9% de cepas de *P. aeruginosa* (Martínez et al., 2014), mientras que el 2017, en el Hospital Nacional de San Juan de Miraflores, Lima, Perú, se aislaron cepas de *P. aeruginosa* en 9.0% de los aislamientos (Carranza y Vásquez, 2017), estos resultados difieren a los hallados en esta investigación, que se obtuvo la frecuencia de aislamiento de *P. aeruginosa* de 0,42%, las discrepancias se pueden deber a características propias de las poblaciones investigadas y a distintos criterios de inclusión y exclusión con los que se seleccionaron las muestras.

De acuerdo a los medios utilizados para el aislamiento, en Logroño, España los 91 aislados *P. aeruginosa* fueron sembradas homogéneamente sobre placas de agar cetrimide sin suplemento de antibiótico, además las placas con crecimiento bacteriano fueron expuestas en un intervalo corto de tiempo a luz UV para comprobar su fluorescencia, se obtuvieron 61 aislamientos con un fenotipo multirresistente (Estepa, 2014). Mientras que, en estudio en San Lorenzo, Colombia, los 54 aislamientos de *P. aeruginosa* fueron obtenidos a partir de cultivos de rutina sembrados en agar Macconkey y agar sangre, provenientes de pacientes hospitalizados y ambulatorios que acudieron al hospital, de tipo de muestra (orina, secreción purulenta, hemocultivo, líquidos de punción, secreción traqueal) obteniendo 18 (7,8%) aislamientos con la probable presencia de carbapenemasas tipo MBL (Molin, 2013). Por otro lado, en Trujillo, Perú, los 54 cultivos de *P. aeruginosa* se inoculó en Caldo Infusión Cerebro Corazón, y luego se sembró por agotamiento en Agar Cetrimide, de los cuales 28 (48 %) son productores de carbapenemasas, mientras que 30 (52%) no lo fueron. (Julca, 2008). En este estudio los 60 aislamientos de *P. aeruginosa*, se realizó un cultivo puro en placas con agar MacConkey, metodología similar a la de Molin, y a la vez distinta a los dos demás autores que utilizaron agar cetrimide, que es un tipo de agar utilizado para el aislamiento selectivo de *P. aeruginosa*, como su nombre indica, contiene cetrimide, que es el agente selectivo contra la flora microbiana alternativa.

La mayoría de los estudios indican una tasa de mortalidad atribuible de aproximadamente el 34% a las infecciones por *P. aeruginosa* (Saavedra, Duarte, González y Realpe, 2014); además, se ha demostrado que la administración de antibióticos es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de resistencia (Perozo, 2012). Asimismo, la alta prevalencia de enfermedades

infecciosas, el incremento de la pobreza, el alto costo de los medicamentos, las tarifas de los servicios médicos son factores que ha contribuido al uso y mal uso de los antibióticos y consecuentemente al incremento de la resistencia a los antibióticos (Quizhp et al, 2014). Todos estos factores, y otros, son comunes en los países con deficientes sistemas proveedores de salud, y que podrían explicar la existencia de infecciones intranosocomiales y de bacterias multirresistentes, incluida *P. aeruginosa*.

Asimismo, entre 2009 a 2010, en Estados Unidos de Norteamérica se obtuvo una tasa de 33.5% de resistencia antimicrobiana en *P. aeruginosa* hacia los carbapenémicos (Mandell, Douglas y Bennett, 2016), con resultados parecidos a los obtenidos en Quito, Ecuador, en 2016, en el hospital Carlos Andrade Marín, donde se detectó el 31.9% de cepas de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos (Guano, 2017). Así también, en Asunción, Paraguay, en el 2013, en un hospital se obtuvo 23.2% de cepas de *P. aeruginosa* con características de resistencia a carbapenémicos y sospechosas de producción de carbapenemasas (Molin, 2016). En el presente estudio se obtuvo el 53.3% de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos, debido a que la distribución de las frecuencias de *P. aeruginosa* varía de acuerdo a la región y a la muestra clínica analizada.

Las cepas de *P. aeruginosa* muestran alta resistencia 57% al imipenem y meropenem. Estos resultados son mayores a los propuestos por la sociedad de infectología de Uruguay, donde el meropenem e imipenem son ya de segunda línea y tasa de resistencia es menor al 20%. Datos similares de resistencia fueron reportados en un estudio del Hospital Edgardo Rebagliati, resistencia al meropenem 64% e imipenem 57% (Astete et al., 2004), y un estudio en el Hospital Nacional Dos de Mayo, la *P. aeruginosa* fue resistente meropenem (40,0%) (García, 2015). En el presente estudio se demostró que el 53.3% de cepas de *P. aeruginosa* aisladas fueron resistentes a carbapenémicos imipenem y meropenem, esta resistencia se podría explicar, por una combinación de mecanismos de resistencia, algunos de ellos inherentes a la especie (resistencia intrínseca o natural) y otros adquiridos (resistencia adquirida por elementos móviles como plásmidos y transposones), que finalmente se manifiestan como resistencia a una amplia gama de antibióticos (IDSA, Sociedad europea de microbiología y enfermedades infecciosas).

Entre 2009 a 2010, en Estados Unidos se obtuvo una tasa de resistencia antimicrobiana en los aislamientos de *P. aeruginosa* hacia los carbapenémicos de 33,5% (Mandell, Douglas y Bennett, 2016), con resultados parecidos en 2016 en Quito, Ecuador, en el Hospital Carlos Andrade Marín, detectó en cultivos de *P. aeruginosa*, que el 31.9 % fueron resistentes a carbapenémicos (Guano, 2017). Así mismo, en otro estudio realizado en Paraguay, el 2013, en pacientes del Hospital de Clínicas San Lorenzo se obtuvo de un total de 232 aislamientos de *P. aeruginosa*, 23,2% fueron las seleccionadas por características de resistencia a carbapenémicos y sospecha a carbapenemasas (Molin, 2016). La infección por *P. aeruginosa*, tiene importancia en el contexto epidemiológico actual debido a la emergencia de resistencia a los carbapenémicos, lo que representa una amenaza para la salud pública mundial (Valderrama et al., 2016). La mayoría de los estudios indican una tasa de mortalidad atribuible de aproximadamente el 34% a las infecciones por *P. aeruginosa* (Saavedra, Duarte, González y Realpe, 2014).

En el Hospital Regional de Lambayeque, Perú, en 2015 se analizaron muestras de secreciones y líquidos y se detectó el 48% de resistencia a carbapenémicos, siendo 10.34% correspondientes a cepas de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos y productoras de carbapenemasas del tipo metalo- $\beta$ -lactamasas (Gastelo, 2016). Asimismo, en 2014 también en Lambayeque, el 26.1% de cepas de *P. aeruginosa* fueron sospechosas a carbapenemasas (Aguilar, Labrín, y Moreno, 2016). Sin embargo, en 2017, en el hospital Nacional en San Juan de Miraflores de Lima, Perú, se encontró el 53 % de cepas de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos; de éstas, 4% fueron positivas para carbapenemasas. (Carranza y Vásquez, 2017). En esta investigación de los 32 aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenémicos y sospechosos de secretar enzimas carbapenemasas, 17 (53.1 %) fueron productores de metalo- $\beta$ -lactamasas según el método de sinergia de doble disco (DDS) mientras que por el método de discos combinados con EDTA (DC) se encontró que la frecuencia fue de 22 (68.8 %) productoras de carbapenemasas de tipo metalo  $\beta$ -lactamasas, estos valores, tan disímiles entre sí, y con los hallados en la presente investigación parece indicar que cada caso es particular.

De otro lado, entre 2013 a 2014 en Colombia observó que las muestras biológicas de mayor aislamiento de *P. aeruginosa* fueron sangre 33%, orina 17,9% y secreción traqueal con 15,4% (Alvarado, 2014), pero, en Paraguay la muestra con mayor cantidad de aislamiento fue secreción traqueal con 28% (Molin, 2016), mientras que en Lima, Perú, en 2013, en el Instituto Nacional de Salud del Niño las muestras de mayor aislamiento de *P. aeruginosa* fueron de origen respiratorio 51.3% (Gonzales, 2013) y en el hospital nacional en San Juan de Miraflores, Lima, Perú, se reportó que el mayor aislamiento se presentó en secreción traqueal con 19%, seguido de secreción bronquial (18%) (Carranza y Vásquez, 2017). En el presente estudio la mayor frecuencia de cepas de *P. aeruginosa* según el tipo de muestra se presentó en secreción endotraqueal 50 %, seguido de la orina 33.3 %, y la mayor frecuencia de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos fue en aspirado endotraqueal con 46.88 %, seguido de orina 28.13 %; estos resultados tienen concordancia con otros, debido a que la mayoría de muestras proviene del área de UCI en donde los pacientes están conectados a ventiladores artificiales. Asimismo, la existencia de pacientes con neumonía intrahospitalaria, permitiría suponer que las muestras más frecuentes fueran las secreciones endotraqueales.

En Quito, Ecuador, en 2016 se demostró que la unidad de cuidados intensivos (UCI) fue la de mayor afección por parte de *P. aeruginosa* con una frecuencia de 40.7%, seguido de traumatología con 15% (Guano, 2017), semejante a lo hallado en Lima, Perú, en el hospital Nacional de San Juan de Miraflores donde se señaló que la UCI fue la de mayor afección por parte de *P. aeruginosa* con 40.7%, seguido de traumatología con 15% (Carranza y Vásquez, 2017), mientras que en 2015 en el hospital José Cayetano Heredia, Piura, Perú, se indicó que los servicios con mayor cantidad de casos de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos fueron UCI con 30% de aislamientos, medicina interna con 28.3% y UCIN con 25% (Cueva, 2015). En el presente trabajo en cuanto a lo relacionado con el servicio hospitalario, UCI fue la de mayor frecuencia de aislamientos de *P. aeruginosa* con 56.7 %, seguido de medicina interna con 21.7 % y emergencia y urología con el 6.7 %, siendo estos resultados similares a los citados. *P. aeruginosa* es un microorganismo implicado mayormente a infecciones nosocomiales con altas tasas de mortalidad y morbilidad, y con alta capacidad de resistencia antimicrobiana, incluida a los carbapenémicos,

debido a la presencia de dispositivos invasores como catéter venoso central, tubo oro-traqueal y sondas urinarias, han sido una constante dentro de los factores de riesgo relacionados con el desarrollo de infecciones por bacterias por *P. aeruginosa*.

En otro aspecto del tema, a pesar de los múltiples avances en la terapéutica, la infección por *P. aeruginosa* continúa siendo un proceso con una elevada mortalidad, en especial en los pacientes ancianos en los que la tasa de mortalidad oscila entre el 35 y el 45%. (Carranza y Vásquez, 2017), en Colombia, el grupo etáreo más afectado por *P. aeruginosa* resistente fueron los pacientes geriátricos (el 48% tenía 65 años o más), lo que remarca la importancia de la edad avanzada como factor de riesgo (Gómez, Leal, Pérez y Navarrete, 2005). En Quito, Ecuador, se evidenció una clara tendencia de afección de *P. aeruginosa* mayormente al grupo de edad adulta seguido por adultos mayores (Guano, 2017). En Lima, Perú, se estimó que la edad promedio de pacientes infectados por *P. aeruginosa* fue de 58.6 años (Cueva, 2015). En esta investigación la afectación de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos fue del 59.37% en el grupo de edad adulta mayor (> 65 años) seguida de los pacientes de la edad adulta (40 – 60 años) con 18.75 %, debido a que la neumonía, es una de las infecciones más frecuentes y graves en la etapa geriátrica, con unas tasas de mortalidad de dos a tres veces superiores al resto de la población debido a una serie de cambios fisiológicos relacionados con el envejecimiento, como son la disminución del reflejo tusígeno, la pérdida de fuerza muscular, y la alteración del reflejo deglutorio, facilitan su desarrollo.

Entre tanto, en Bogotá, Colombia, el 73% de cepas de *P. aeruginosa* fueron obtenidos de hombres y el 27%, de mujeres (Gómez, Leal, Pérez y Navarrete, 2005). En Quito, Ecuador, en el 2016, *P. aeruginosa*, fue aislado mayormente del género masculino (68%) frente al femenino (32%) (Guano, 2017). En Lima, Perú, en el hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen - ESSALUD, de los aislados de *P. aeruginosa* el 69 % fueron obtenidos de pacientes del sexo masculino (Díaz, 2008). En esta investigación la afectación de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos fue del 62.5 % en el género masculino, contra 37.5 % del género femenino, tendencia concordante con los resultados arriba citados.

En cuanto a los métodos, el uso de los sistemas automatizados acorta los tiempos de respuesta del laboratorio y mejora la sensibilidad analítica de los métodos; es decir, se puede detectar el desarrollo bacteriano en una suspensión con antimicrobianos, antes que el laboratorista pueda detectar turbidez (Ferraro y Jorgensen, 1999). También detectan la sensibilidad a los antimicrobianos en el desarrollo bacteriano en micropaneles que contienen diluciones seriadas de antibióticos, estableciendo la mínima concentración del mismo que es capaz de inhibir el desarrollo microbiano (García, 2002). Por otro lado, evita la transcripción errónea de resultados pues cuentan con programas de comunicación bidireccional y permite dilucidar la presencia de  $\beta$  lactamasas de espectro extendido y otras  $\beta$ -lactamasas, incluso del tipo carbapenemasas (García, 2002). En este estudio se optó por la utilización del método automatizado MicroScan walk away 96 plus, por la disponibilidad del equipo en el hospital regional José Cayetano Heredia, Piura, Perú.

Asimismo, la técnica manual de doble disco difusión es una herramienta muy sensible y específica, hasta con 95 % de sensibilidad y 98 % de especificidad para la detección de MBL, por lo es recomendado como método de rutina para la detección de cepas productoras de MBL (Galani

et al., 2008; Guevara et al, 2010; Aguilar, Labrín, y Moreno, 2016). En Trujillo, Perú, en 2016 con el método fenotípico de doble discos difusión se encontró el 14% de *P. aeruginosa* productoras de MBL (Julca, 2016). Esta técnica fue también utilizada en esta tesis, tanto por su sensibilidad y especificidad, así como por su relativa simplicidad.

La detección de MBL en *P. aeruginosa* a partir de muestras clínicas constituye un hecho observable en todos los países del mundo, con tendencia creciente (Díaz, 2008). Muchas de estas cepas fueron responsables de epidemias de infecciones hospitalarias prolongadas graves. Un estudio de casos y controles en Japón mostró que los pacientes infectados con cepas productoras de MBL recibían generalmente múltiples antibióticos (Díaz, 2008). Además, los fallecimientos relacionados con infección por *P. aeruginosa* productora de MBL fueron más frecuentes en comparación con sujetos infectados por *P. aeruginosa* MBL negativas (Carranza y Vásquez, 2017). La aparición de bacterias MBL en el ámbito hospitalario se asocia con un problema clínico importante, así como a programas de control de infecciones. Por estos motivos se requiere disponer de métodos diagnósticos confiables y precisos para identificación de estas cepas (Díaz, 2008). En este estudio, utilizando la sinergia de doble difusión en disco, se detectó MBL en cepas de *P. aeruginosa* aisladas de pacientes del hospital Cayetano Heredia de Piura, Perú, resistentes a los carbapenémicos (IMP y MEM) y con sensibilidad disminuida, lo que incrementa el riesgo para los pacientes hospitalizados.

El abuso en la administración de los  $\beta$ -lactámicos y carbapenémicos sobre *P. aeruginosa* es un factor importante en la generación de microorganismos multirresistentes que, en el futuro, limitará la elección de esquemas terapéuticos ante infecciones agudas. Por lo tanto, se debe continuar buscando MBL en *P. aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos, usando el método de doble disco difusión, y así dirigir de manera óptima la terapéutica aplicada a los pacientes para, de esa manera, evitar la diseminación de la resistencia (Perozo, 2012).

En España se demostró que la mortalidad de los pacientes con cepas resistentes a carbapenémicos es superior a la de las cepas sensibles (Guano, 2017). La mayoría de los estudios indican una tasa de mortalidad atribuible de aproximadamente el 34% a las infecciones por *P. aeruginosa* (Saavedra, Duarte, González y Realpe, 2014). En esta investigación el 53.1 % de aislamientos de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos son productoras de metalo  $\beta$ -lactamasas según el método de sinergia de doble disco (DDS), mientras que con el método de discos combinados con EDTA se obtuvo un 68.8 %, de los cuales todos fueron de pacientes hospitalizados, la diferencia de valores del método de discos combinados, se da por la alta sensibilidad de 94.7% y una especificidad de 98.0% de la prueba según un estudio de Galani en el 2008.

El método de Sinergia de doble disco (DDS), se realizó utilizando discos de CAZ (30ug), IPM (10ug) y MEM (10ug) (Arakawa et al., 2000). Como inhibidor se utilizó EDTA, los discos de EDTA comerciales (Bioanalyse) contenían 750ug EDTA, los discos preparados in-house contenían 10ul de EDTA 0.1M (292ug) (Yauri, 2016). Con una alta sensibilidad y especificidad de la prueba, 96.9% y 100% respectivamente. Mientras que en un estudio 232 aislamientos de *P. aeruginosa*, 30 de ellas dieron sinergia por la técnica de doble disco con EDTA mientras que con los discos de

DPA-ME, 18 aislamientos de *P. aeruginosa* fueron probable MBL. Esta diferencia puede deberse a que el método de doble difusión con EDTA tiene el inconveniente de producir falsos positivos (Franco et al., 2013; Perozo, 2012), debido a que el EDTA es capaz de aumentar la permeabilidad de la membrana externa, incrementando así la susceptibilidad a *P. aeruginosa* y *Acinetobacter spp* a varios antimicrobianos (Perozo, 2012).

Mientras que otro estudio en el 2001 por Lee y colaboradores (Korea), evaluaron el método de Sinergia de doble disco (DDS) obteniendo una sensibilidad y especificidad de 100% evaluando aislamientos MBL positivos tipo VIM (Lee et al., 2001). Con datos parecidos en el año 2006, Care Franklin y colaboradores (Australia) evaluaron con el método DDS aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa*, poseedores de genes IMP-1, IMP-4, VIM-2 y VIM-4, obteniendo una sensibilidad de 79% y especificidad de 98%. (Franklin et al, 2006). Dos años más tarde en Grecia, Irene Galani y colaboradores obtienen una sensibilidad y especificidad de 100% y 91.9% respectivamente para DDS usando una distancia de 10mm entre los discos de IPM y EDTA, los aislamientos fueron del tipo VIM-1 (Galani et al., 2008). En este estudio se utilizó el disco EDTA como inhibidor teniendo como resultados 53.1 % con el método de Sinergia de doble disco por lo que estos resultados se deberían confirmar por biología molecular, ya que son las técnicas de referencia para detectar la producción de MBL.

El segundo método utilizado fue Discos combinados con inhibidor (EDTA). En korea, Yong y colaboradores, obtuvieron una sensibilidad y especificidad de 100% para la prueba, su evaluación fue solo en aislamiento de *Pseudomonas sp.*, considerando un incremento  $\geq 7$ mm como positivo (Yong et al., 2002). En el año 2008 en Grecia se evaluó el método usando el mismo criterio de  $\geq 7$ mm, obteniendo una sensibilidad de 94.7% y una especificidad de 98.0% (Galani et al., 2008). Por otro lado, en el estudio de Lima para el desarrollo del método de discos combinados con inhibidor se prefirió el uso de EDTA como inhibidor y se utilizó el criterio, según lo recomendado por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, de un incremento mayor o igual a 5mm del diámetro de inhibición para considerar un resultado positivo. El criterio de  $\geq 5$ mm permitió diferenciar 28/32 muestras positivas de forma clara y objetiva. (Yauri, 2016). En nuestro estudio se utilizó el criterio, según lo recomendado por la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, de un incremento mayor o igual a 5mm del diámetro de inhibición para considerar un resultado positivo, dando una frecuencia de 68.8 % de *P. aeruginosa* resistente a los carbapenémicos productores de metalo  $\beta$ -lactamasas.



## CONCLUSIONES

- Se aisló e identificó un total de 60 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes del Hospital Cayetano Heredia Piura, Perú, en el periodo de noviembre del 2017 a setiembre del 2018.
- Se determinó 32 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenémicos de pacientes del Hospital Cayetano Heredia Piura, Perú. en el periodo de noviembre del 2017 a setiembre del 2018.
- La frecuencia hallada fue 53.3 % de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a los carbapenémicos aisladas de pacientes del Hospital Cayetano Heredia de la ciudad de Piura, Perú, en el periodo de noviembre del 2017 a setiembre del 2018.

## RECOMENDACIONES

Al finalizar la investigación, de acuerdo con los resultados de este estudio se recomienda lo siguiente:

- A las autoridades de salud, brindar charlas de sensibilización a las personas sobre el uso de antibióticos.
- Al personal del sector salud, que en los laboratorios clínicos en especial del servicio de microbiología se realice una vigilancia permanente de la resistencia bacteriana frente a los antibióticos.
- La vigilancia microbiológica en los servicios de salud debe estar enfocada a detectar la presencia de *P. aeruginosa* multirresistentes en los servicios hospitalarios de mayor riesgo donde los pacientes están expuestos a microorganismos patógenos.
- La detección de estas enzimas (metaló  $\beta$ -lactamasas) es importante para la toma de medidas de control epidemiológico, ya que el reconocimiento temprano de este tipo de resistencia, previene su propagación y además posibilita un tratamiento adecuado.
- Realizar estudios de biología molecular para determinar las características genotípicas de las carbapenemasas implicadas en los mecanismos de resistencia bacteriana en cada institución de nuestro medio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abidi, S., Sherwani, S., Siddiqui, T., Bashir, A., Y Kazmi, S. (2013). Drug resistance profile and biofilm forming potential of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from contact lenses in Karachi-Pakistan. BMC Ophthalmology, 13:57
- Aguilar, F., Labrín, H., Y Moreno, M. (2016). Frecuencia y comparación de tres métodos de detección fenotípica de *Pseudomonas aeruginosa* productora de metalo- $\beta$ -lactamasas aisladas en el hospital regional Lambayeque. RevExpMed; 2(1):05-11.
- Alvarado, J. (2014). Perfil epidemiológico, clínico, fenotípico y genético de *Pseudomonas aeruginosa* en la Fundación Hospital de la Misericordia (tesis). Universidad Nacional De Colombia Facultad de Medicina, Departamento de Pediatría, Bogotá, Colombia.
- Arakawa, Y., Shibata, N., Shibayama, K., Kurokawa, H., Yagi, T., Y Fujiwara, H. (2000). Convenient Test for Screening Metallo- $\beta$ -Lactamase-Producing Gram-Negative Bacteria by Using Thiol Compounds. J Clin Microbiol. Jan 1; 38(1):40-3.
- Astete S et al. (2004). Sensibilidad antibiótica de los gérmenes causantes de infecciones urinarias en pacientes ambulatorios en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. Rev Soc Per Med Inter, vol. 17, p. 5- 8.
- Beckman, C. (2015). Manual de Procedimientos para Gram-Negativos Deshidratados. Inc. MicroScan Brea, CA 92821. USA.
- Bolaños C y Lannacone J. (2016). Patrones fenotípicos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* de muestras clínicas a nivel de Sudamérica. Cátedra Villarreal.; Vol.4 No.1 p. 73-100.
- Cabrera, L., y Díaz L. (2014). Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp* aislados en muestras clínicas de origen comunitario y hospitalario. Rev de Cien Médi. Habana. Cuba.vol. 20(2).
- Calvo J, Fernández F, Mirelis B Y Navarro F. (2011). Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en gramnegativos. In: Cercenado E CR, editor. Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2da ed. ed.
- Carmen, I., Sierra R., et al. (2011). Actividad in vitro de piperacilina-tazobactam en combinación con aminoglucósidos y fluoroquinolonas en *Pseudomonas aeruginosa* productoras de metalo- $\beta$ -lactamasas. Rev de la Soci Venezolana de Micro. Bolívar. 31:13-19.

Carranza, S., y Vásquez, W. (2017). Carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa* en aislados de pacientes hospitalizados de un hospital nacional en San Juan de Miraflores de enero a junio, Lima-2017. Universidad Norbert Wiener. (Tesis de pregrado). Lima.

Casellas, J. (2011). Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. Rev. Panamericana. Salud Pública; 30(6):519–28.

Cejas, D., Almuzara, M., Santella, G., Tuduri, A., Palombarani, S., Figueroa, S., y Radice, M. (2008). Caracterización fenotípica y genotípica de la resistencia a imipenem en *Pseudomonas aeruginosa* aislada en un hospital de Buenos Aires. *Revista Argentina de Microbiología*, 40(4), 238-245.

Clinical and laboratory standards institute. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Second Informational Supplement. M100-S22 [32]. Compounds. Journal of Clinical Microbiology. 2000; 38(1):40-3.

Cuesta D, Vallejo M., et al. (2012). Infección intrahospitalaria por *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente: estudio de casos y controles. Medicina U.P.B. [Internet]. [Citado 14 julio 2017]; 31(2):135–142. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/1590/159026906007/>

Cueva, P. (2015). Infecciones intrahospitalarias por *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes adultos en el Hospital José Cayetano Heredia 2014. (Tesis Médico cirujano) .Universidad Nacional de Piura, Piura, Perú.

Díaz, J. (2008). Detección de metalobetalactamasas (MBL) en *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenemas en un Hospital Nacional, en los meses de enero a octubre del año 2008. (Tesis Magister en Microbiología) Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.

Ellington, M., Kistler, J., Livermore, D., y Woodford, N. (2007). Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo- $\beta$ -lactamases. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 59, 321-322. Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother. 2008;61 (3):548-53.

Fariñas C y Martínez L. (2013). Clínica Infecciones causadas por bacterias gram negativos multiresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. Rev Enferm Infecc Microbiol Clin. [Internet]. [Citado 10 julio 2017]; 31(6): 406.

Ferraro, M., Y Jorgensen, J. (1999). Susceptibility testing instrumentation and computerized expert system for data analysis and interpretation. In Murray PR, Baron E J, Pfaller M A, Tenover F C & Tenover R H. Manual of Clinical Microbiology, 7th ed 1999, ASM Press Washington DC, pp. 1593-600.

- Franco R, Martínez M, Melgarejo N, Falcón M, Kawabata A, Almada P *et al.* (2013). Carbapenemasas tipo métalo beta lactamasas circulantes en hospitales de Asunción y Central. LCSP. Paraguay. Disponible en: <https://temaslibres2013.blogspot.com/2013/10/carbapenemasas-tipo-métalobetalactamasa.html?m=1>
- Galani, I., Rekatsina, P., Hatzaki, D., Plachouras, D., Souli, M., Giamarellou, H. (2008). Evaluation of different laboratory tests for the detection of metallo-beta-lactamase production in Enterobacteriaceae. J Antimicrob Chemother.; 61(3):548-53.
- García A. (2015). Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. Acta Med Per.; 29(2): 99-103.
- Garcia, C., Astocondor, L., y Banda, C. (2012). Enterobacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido: Situación en América Latina y en el Perú. Acta Medica Peruana, 29(3), 163-169.
- García, P. (2002). Ventajas y problemas de los métodos automatizados de estudio de susceptibilidad in vitro. Rev Chil Infect; 19 (Supl. 2): S 96-100.
- Garcia, S. (2011). Frecuencia de *Pseudomonas aeruginosa* en fuentes de transmisión en los servicios de hospitalización del hospital III José Cayetano Heredia. Piura. Perú.
- Gastelo, R. (2016). Bacterias gram negativas no fermentadoras productoras de carbapenemasas, aisladas de los servicios de cuidados críticos UCI – UCIN y emergencias, Hospital Regional Lambayeque 2014 al 2015. (Tesis grado bachiller) Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Facultad de Ciencias Biológicas Lambayeque, Perú.
- Gómez, C., Leal, A., Pérez, M., y Navarrete, M. (2005). Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*: Entendiendo a un peligroso enemigo. Revista de la facultad de medicina Universidad Nacional de Colombia, 53(1), 27-34.
- Gonzales, E. (2012). Métalo- $\beta$ -lactamasas: ¿el fin de los  $\beta$ -lactámicos? .Revista peruana de epidemiología, 16(3), 8pp.
- Gonzales, E. (2013). Detección y caracterización molecular de métalo- $\beta$ -lactamasas en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* recuperados en el Instituto Nacional de Salud del Niño Lima-Perú. 2011 al 2012. (Tesis), INSN, Lima.
- Gonzales, E., Vicente, W., Champi, R., Soto, J., Flores, W., Lovera, M., Y León, S. (2013). Métalo- $\beta$ -Lactamasas en aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* en Lima, Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica, 30(2), 241-245.

- Guano, A. (2017). Infección nosocomial: Prevalencia de *Pseudomonas aeruginosa* en aislamientos microbiológicos y su resistencia a los Carbapenémicos en pacientes del hospital Carlos Andrade Marín en el periodo julio – diciembre. Quito, Ecuador.
- Gutkind, G., Di Conza, J., Power, P., & Radice, M. (2013).  $\beta$ -lactamase-mediated Resistance: A Biochemical, Epidemiological and Genetic Overview. *Current Pharmaceutical Design*, 19(2) 164-208.
- Henry, A., & Speert, P. (2011). *Pseudomonas*. In J. Versalovic et al. (Eds.), *Manual of clinical microbiology*. (10th ed, pp.677-691) Washington, ASM Press.
- Hoffmann, F., Roche Y Polyphor, (2013). Colaboraron para combatir las infecciones por bacterias multiresistentes. Group Communications roche. Basilea. [Internet]. Disponible en: [https://www.roche.com/dam/jcr:52b52596-875f-452d-8222\\_e8412703491d/en/med-cor-2013-11-04-sp.pdf](https://www.roche.com/dam/jcr:52b52596-875f-452d-8222_e8412703491d/en/med-cor-2013-11-04-sp.pdf).
- Jimeno, A., Alcalde, M., y Blázquez, A. (2011). Detección de un brote epidémico por *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente productora de metalo-beta-lactamasa. *Revista Clínica Española*, 211(4), 187—191.
- Juan, C. & Oliver, A. (2010). Carbapenemasas en especies del género *Pseudomonas*. *Rev. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, publi, 28 (supl 1):pp19-28.
- Julca, A. (2016). Detección de cultivos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de metalobetalactamasas, en aislamientos de origen hospitalarios. TESIS: Universidad nacional de Trujillo, Perú.
- Kathleen, L., Kathleen, F., Giger, O., Cooper, H., Cutler, C., Inermam, M., y Kim, Y. (2015). The first new delhi metallo- $\beta$ -lactamase (NDM) *Pseudomonas aeruginosa* outbreak identified in the United States in an acute care hospital. *American Journal of Infection Control*, 431, 8-73.
- Lanini, S., D'Arezzo, S., Puro, V., Martini, L., Imperi, F., Piselli, P., Montanaro y Ippolito, G. (2011). Molecular epidemiology of a *Pseudomonas aeruginosa* hospital outbreak driven by a contaminated disinfectant-soap dispenser. *PLOS ONE* 6(2):e17064.
- Lee K, Chong Y, Shin Hb, Kim Ya, Yong D, Yum Jh. (2001). Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- $\beta$ -lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clinical Microbiology and Infection*; 7(2):88-91.
- Lister, P., Wolter, J., y Hanson, N. (2009). Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 22:582-610.

- Lloria, M. (2009). Infectología clínica a distancia. Manejo de las infecciones por organismos multirresistentes. Buenos Aires.
- López, L. (2002). Factores de riesgo asociados a la presentación *Pseudomona* multirresistente en pacientes multirresistente en pacientes hospitalizados en el hospital Edgardo Rebagliati Martins febrero 2000 - marzo 2002. Tesis para optar el título de especialista en medicina intensiva. Universidad mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Magalhaes, V., Lins, A., y Magalhaes, M. (2005). Metallo- $\beta$ -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated in hospitals in Recife, PE, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, 36, 123-125.
- Mandell., Douglas, y Bennett. (2016). *Pseudomonas aeruginosa* y otras especies de *Pseudomonas*. [Online]; Availa
- Martínez E, Hernández C et al. (2014). Frecuencia de aislamientos microbiológicos y perfil de resistencia bacteriana en 13 clínicas y hospitales de alta complejidad en Santiago de Cali-Colombia. Asoc. Colomb Infect.
- Martínez L y Calvo J. (2010). Desarrollo de las resistencias a los antibióticos: causas, consecuencias y su importancia para la salud pública. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.; 28 (Supl.4):4-9.
- Martinez P, Mercado M y Máttar S. (2005). *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii* productoras de metalo-beta-lactamasas en el principal hospital de Cordoba. Infectio; 9(1):
- Martínez, A., y Núñez, J. (2011). *Pseudomonas aeruginosa* y la implicación de los mecanismos de resistencia. Arch Salud Sin. Vol.5 No.3 p.80-85.
- Martínez, L y Pascual, A. (2012). Mecanismos de resistencia a las carbapenemes en *Pseudomonas aeruginosa*. 2ed. Sevilla, España: Pearson Educación S.A.XVI,1235(p.263, 296, 315, 357,621).
- Mena J, Minoli M., et al. (2012). Búsqueda de KPC y Metalo $\beta$ lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en el Hospital Córdoba. 2012 [tesis] Córdoba: Supervisión Microbiología, Servicio de Bioquímica, Hospital Córdoba, Ministerio de Salud.
- MINISTERIO DE SALUD. (2014). Enterobacterias resistentes a carbapenémicos, un desafío para la atención hospitalaria Lima, Perú. Boletín Epidemiológico (Lima). 23 (34), 667-668.
- Molin C. (2016). Detección Fenotípica de Carbapenemasas en *Pseudomonas aeruginosa* en Pacientes que acudieron al Hospital de Clínicas San Lorenzo de febrero a julio 2013. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud,14(1):25-31.

- Moreno K. (2013). Carbapenémicos: tipos y mecanismos de resistencia bacterianos. Revista médica de costa rica y Centroamérica. [Citado 14 agosto 2017]; (608) 599 - 605.
- Murray, P, Rosental, S y Pfaller, A. (2010). Microbiología Médica (7ma ed). Barcelona, España: Mosby Inc.
- Nicolau, C., & Oliver, A. (2010). Carbapenemasas en especies del género *Pseudomonas*. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Palma de Mallorca 28 (Supl 1), 19-28.
- Nordmann P. (2014). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Overview of a major public health challenge. Médecine et Maladies Infectieuses.; 44(2):51-6.
- Núñez, L., Soto, A., Calmet, E., Castillo, M., & Casalindo, E. (2001). Evaluación clínica de las infecciones producidas por *Pseudomonas aeruginosa* en el hospital Arzobispo Loayza. Revista peruana de enfermedades infecciosas y tropicales, 1 (4) sp.
- Ochoa, S., Lopez, F., Escalona, G., Cruz, A., Dávila, L., López, B. y Xicohtencatl, J. (2013). Características patogénicas de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a carbapenémicos, asociados con la formación de biopelículas. Boletín Médico Hospital Infantil de México, 70(2), 138-150.
- Pagniez, G., Rodice, M., Curiolo, A., Rodríguez, O., Rodríguez, H, Vay, C., Famiglietti A, y Gutkind, G. (2006). Prevalencia de metalo- $\beta$ -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a los carbapenemas en un hospital universitario de Buenos Aires. Revista argentina de Microbiología. Pp: 38 (1), 33.7.
- Pasteran, F. (2014). Alerta Epidemiológica: Diseminación de Carbapenemasas. Buenos Aires, Argentina. Recuperado.  
[http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apuacuba/diseminacion\\_de\\_carbapenemasas.pdf](http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apuacuba/diseminacion_de_carbapenemasas.pdf).
- Pérez L, Zurita I, Pére N, Patiño N, Calvimonte y Bolivia. (2013) .Infecciones intrahospitalarias: Agentes, Manejo Actual y Prevención. Rev Cien! Cienc Med 2010; 13(2): 94-98.
- Pérez, A., Garcia, P., Poggi, H., Braun, S., Castillo, C., Roman, J. C, y Gonzales, G. (2008). Presencia de metalo- $\beta$ -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* resistente a imipenem. Revista Médica de Chile, 136, 423-432.
- Pérez, V. (2014). Caracterización de mecanismos de resistencia a carbapenémicos, integrones y tipificación molecular en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* de diferentes orígenes. 2013 al 2014. (Tesis doctoral): Universidad de la rioja, Facultad de Ciencias.
- Perozo, A. (2012). Detección fenotípica de metalo- $\beta$ -lactamasas en aislados de *Pseudomonas aeruginosa* SciELO, 40(2): 154-162.



- Perozo, A., Castellano, M., Tutaya, K., Ling, E., & Arraiz, E. (2013). Evaluación de métodos fenotípicos para la detección de metalo- $\beta$ -lactamasas en aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. *Kasmera*, 41 (2), 115-126.
- Piersigilli A, Enrico MC, Bongiovanni ME, Bilbao L, Martínez G, Ledesma E. (2009). Aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de Beta lactamasa de espectro extendido en un centro privado de Córdoba. *Rev Chil Infect*; 26(4):331-5.
- Quizhpe, P., Encalada, L., Sacoto, A., Andrade, D., Muñoz, G., Calvo, D., Y Otros. (2014). Uso apropiado de antibióticos y resistencia bacteriana. Cuenca, Ecuador: Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Cuenca.
- Radice, M., Marin, M., Giovanakis, M., Vay, C., Almuzara, M., Limansky, A... Gutkind, G. (2011). Criterios de ensayo, interpretación e informe de las pruebas de sensibilidad a los antibióticos en los bacilos gram negativos no fermentadores de importancia clínica: recomendaciones de la subcomisión de antimicrobianos de la SADEBAC- AAM. *Revista Argentina de Microbiología*, 43, 136-156.
- Rasmussen, J & Hoiby, N. (2007). Class A carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*; 60: 470-2.
- Ríos, P. (2013). Frecuencia de los genes bla IMP, bla VIM y bla NDM productores de metalo- $\beta$ -Lactamasas en aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* no sensibles a Carbapenémicos en Lima-Perú. (Tesis para optar licenciatura en Tecnología Médica) Universidad nacional mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Roca, D. (2014). *Pseudomonas aeruginosa*: un adversario peligroso. *Acta Bioqui Clín Latino*. [Internet]. 2014 [Citado 13 julio 2017]; 48 (4): 465-74. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S032529572014000400009](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032529572014000400009)
- Rojas, L. 2009. Identificación de genes responsables de resistencia a carbapenémicos en cepas nosocomiales de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de algunos hospitales de México. (Tesis de Maestro en Ciencias Médicas). Universidad de Colima, México.
- Saavedra S, Duarte C, González M, y Realpe, M. (2014). Caracterización de aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de carbapenemasas de siete departamentos de Colombia. *Rev Biom*.;34 (Supl.1):217-23, Bogotá, D.C., Colombia.
- Sacsaquispe, R., & Ventura, G. (2001). Manual de procedimientos bacteriológicos en infecciones intrahospitalarias / INS -- Lima: Ministerio de Salud, INS, 2001. 89 p.
- Salvador, G. (2017). Identificación de genes de Metallo- $\beta$ -lactamasas en *Pseudomonas aeruginosa* de aislados clínicos hospitalarios 2016. Lima – Perú.

- Sánchez, S. Salso, E. Culebras, J. J. Picaso (2004) – Resistencia a los carbapenemas por metaloenzimas en aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*. Revista Española de Quimioterapia, volumen 17 (Nº): 336 – 340.
- Sandoval C. et al., (2011). Sepsis por *Pseudomonas aeruginosa* en un lactante previamente sano. *Rev Chil Infec.* [Internet]. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071610182011000700014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071610182011000700014&script=sci_arttext).
- Shimada, T & Matsumura, I. (2014). Inmune evasión of *Pseudomonas aeruginosa*. Japanese Journal of Clinical Immunology, 37:33-41. *Clinical Microbiology and Infection*; 7(2):88-91.
- Strateva, T. & Yordanov, D. (2009). *Pseudomonas aeruginosa, a phenomenon of bacterial resistance*. Journal of Medical Microbiology, 58:1133-1148.
- Streeter, K. y Katouli, M. (2016). *Pseudomonas aeruginosa*: A review of their pathogenesis and prevalence clinical setting and the environment. *Infection Epidemiology and Medicine*, 2(1), 25-32.
- Suárez C, Kattán N, Guzmán A y Villegas M. (2006). Mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* y *Enterobacteriaceae* y estrategias para su prevención y control. *Infecto*, 10 (2):85
- Torres, Luis; González, Andreina; Sanoja, Yubia; Calvo, Alberto (2005). Detección fenotípica de metalo-β-lactamasas en bacilos Gram negativos resistentes a carbapenemas, Universidad Central de Venezuela. Caracas-Venezuela -XII Congreso de la Asociación Panamericana de Infectología.
- Uttley, L, Harnan, S., Cantrell, A Taylor, C., Walshaw, M., Brownlee, K. Y Tappenden, P. (2013). Revisión sistemática de los inhaladores secos de colistimetato sódico y tobramicina en fibrosis quística. *European Respiratory Review*, 22: 476-486.
- Valderrama S, Gonzáles P, Caro M, Natalia A, Ariza B, Gill F, et al. (2016). Factores de riesgo para bacteriemia por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenémicos adquirida en un hospital colombiano. [Online].; [cited 2017 Junio 2].
- Viedma E. (2014). Caracterización molecular y epidemiológica de aislamientos clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente. [tesis] Universidad Complutense de Madrid, Facultad de Medicina, Dep de Micro I, Madrid, España.
- Vila J, Y Marco, F. (2010). Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enferm Infecc Microb Clin*. [Citado 13 julio 2017]; 28(10):726–736.

- Vilar Compete, D., Jacquemin, B., Diaz-Gonzales, A., Velasquez, C., & Volkow, P. (2003). Brote por *Pseudomonas aeruginosa*, en el área de atención ambulatoria de heridas quirúrgicas, en pacientes posmastectomizadas. *Salud Pública de México*, 45(5), 371-378.
- Villa, L., Cortes, J, et al. (2013) *Pseudomonas aeruginosa* resistente a antimicrobianos en hospitales colombianos. *Rev Chilena Infectol. Colombia*; 30 (6): 605-610.
- Villegas M, Prado I, et al. (2012). Identificación de *Pseudomonas aeruginosa* empleando el método del Numero Más Probable. *Rev. Perú. Epidemiol. Lima*. [Citado 6 agosto 2017]; Vol. 16 No 2.
- Villegas, M., Olivera, M., Correa, A., Suárez, C., Miranda, M., Lolans, K., & Quinnjp. (2005). High prevalence of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from Colombian hospitals: evidence for nosocomial outbreaks. Colombian Nosocomial Resistance Study Group. Presented at 34 th Annual Meeting IDSA. San Francisco, California.
- Weiner, L., Webb, A., Limbago, B., Dudeck, M., Patel, J., Kallen, A., Edwards, J., Sievert, D. (2016). Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011-2014. *Infection Control Hospital Epidemiology*, 37(11), 1288-1301.
- Yauri, K (2016). Desempeño de cinco métodos fenotípicos para la detección de metalobetalactamasas en bacilos gram negativos tipificados genotípicamente. TESIS. Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica. Lima, Perú.
- Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM Y Chong Y. (2002). Imipenem-EDTA Disk Method for Differentiation of Metallo- $\beta$ -Lactamase-Producing Clinical Isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* *Journal of Clinical Microbiology*.;40(10):3798-801.

# ANEXOS

## ANEXO 1. ÁREA DE ESTUDIO.



**Figura 1.** Hospital Regional Cayetano Heredia.  
Fuente: walac noticias.

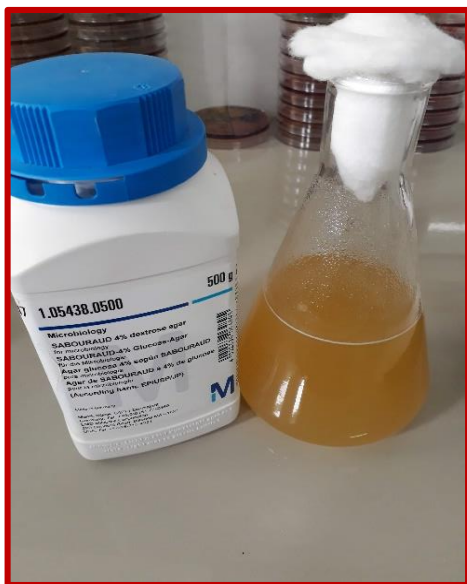


**Figura 2.** Toma de muestras en el hospital Regional Cayetano Heredia.  
Fuente: Cylonphoto

## ANEXO 2. CEPAS, AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN.

Informe de consulta resumida										
HOSPITAL H. CAYETANO HEREDIA										
Moneda	Fecha de consulta	Nombre del paciente	ID de paciente	Med. que	Med. al	Origen	Servicio en	ap. al	ap. al	Examen del an.
00262078001	01/06/2014	RAMIREZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00211401001	01/06/2014	RODRIGUEZ DE TABAROA, ADELITA	467021			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078002	01/06/2014	RAMIREZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00211401079	01/06/2014	JAVIERA ALVARADO, JOSE	2002010000			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00420180010	04/04/2014	RAMIREZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078003	01/06/2014	PIAÑA DE COLLAZO, MARCELO	20020002			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00420180011	04/04/2014	GALAZ MONTAÑA, GLEN	281096			G1	G1	1	P	peringsoma Final
0111220110072	01/12/2011	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	AC1	1	P	peringsoma Final
00620180010	06/02/2014	RAMIREZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00612018040	06/01/2014	RAMIREZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078004	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078005	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078006	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078007	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078008	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078009	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078010	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078011	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078012	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078013	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078014	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078015	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078016	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078017	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078018	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078019	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078020	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078021	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078022	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078023	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078024	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078025	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078026	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078027	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078028	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078029	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078030	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078031	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078032	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078033	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078034	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078035	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078036	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078037	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078038	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078039	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078040	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078041	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078042	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078043	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078044	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078045	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078046	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078047	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078048	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078049	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078050	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078051	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078052	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078053	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078054	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078055	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078056	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078057	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078058	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078059	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078060	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078061	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078062	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078063	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078064	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078065	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078066	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078067	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078068	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078069	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078070	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078071	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078072	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078073	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078074	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078075	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078076	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078077	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078078	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078079	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078080	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078081	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078082	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078083	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078084	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078085	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078086	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078087	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078088	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078089	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078090	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078091	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078092	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078093	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078094	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078095	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078096	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078097	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078098	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078099	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078100	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078101	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078102	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078103	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078104	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078105	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078106	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078107	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078108	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078109	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1	1	P	peringsoma Final
00262078110	01/06/2014	RODRIGUEZ DE JURENY, JENY	5516565			G1	G1			

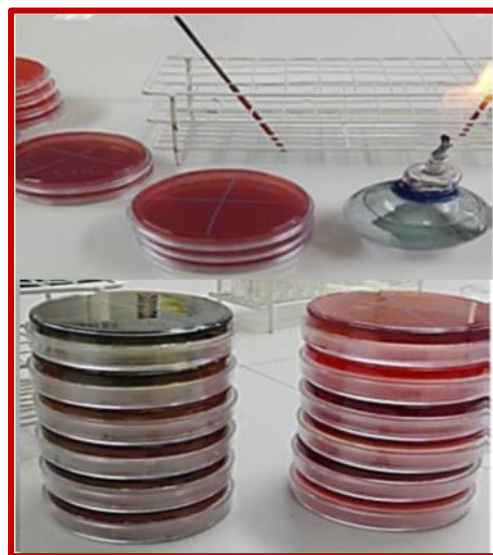
**Figura 3.** Formato de cultivos positivos para realización de paneles en laboratorio de Microbiología del HRCH.



**Figura 5.** Preparación de agar Mueller Hinton (MH).

[illegible]

**Figura 4.** Cuadro de tamizajes de *P. aeruginosa* identificadas por el equipo automatizado MicroScan.



**Figura 6.** Recuperación de cepas de *P. aeruginosa* en agar MacConkey.



**Figura 7.** Incubación de cepas de *P. aeruginosa* en Incubadora Memmert a 37 °C.



**Figura 8.** Preparación del inóculo.



**Figura 9.** Panel de identificación bacteriana para Gram negativos.



**Figura 10.** Materiales para la realización de la identificación y antibiograma en el equipo automatizado MicroScan.



### ANEXO 3. DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS.



**Figura 11.** Placas rotuladas para la realización de los métodos de detección de carbapenemasas.



**Figura 12.** Hisopado para la realización de los métodos de detección de carbapenemasas.



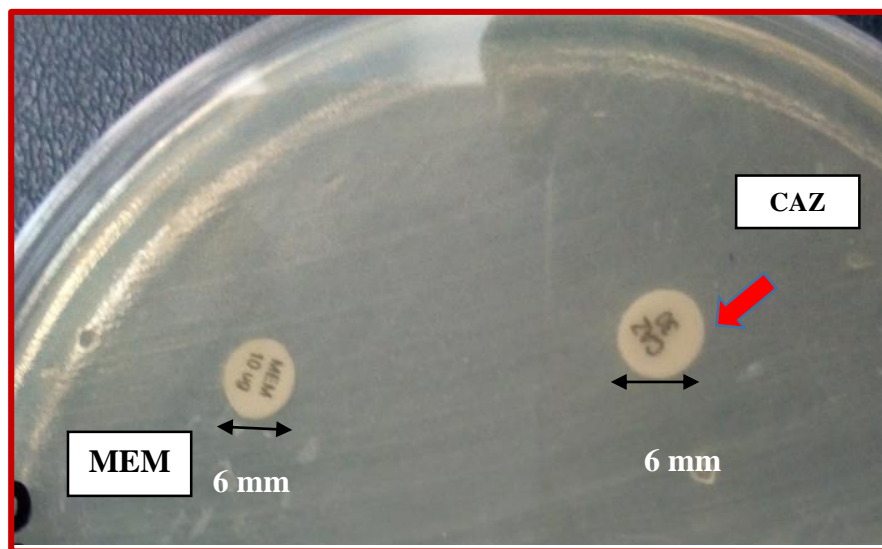
**Figura 13.** Discos de antibióticos utilizados para la realización de los métodos fenotípicos de detección de carbapenemasas.



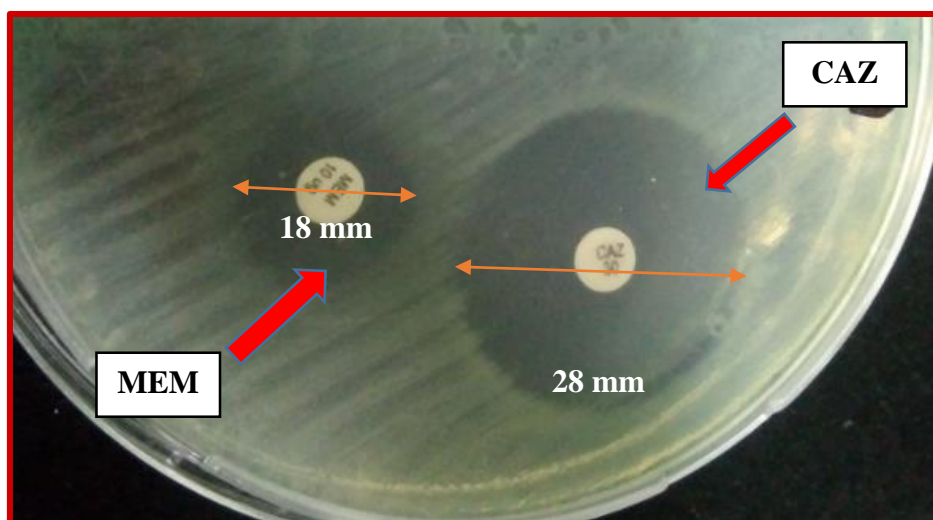
**Figura 14.** Colocación de discos para la realización de los Métodos fenotípicos de detección de carbapenemasas.



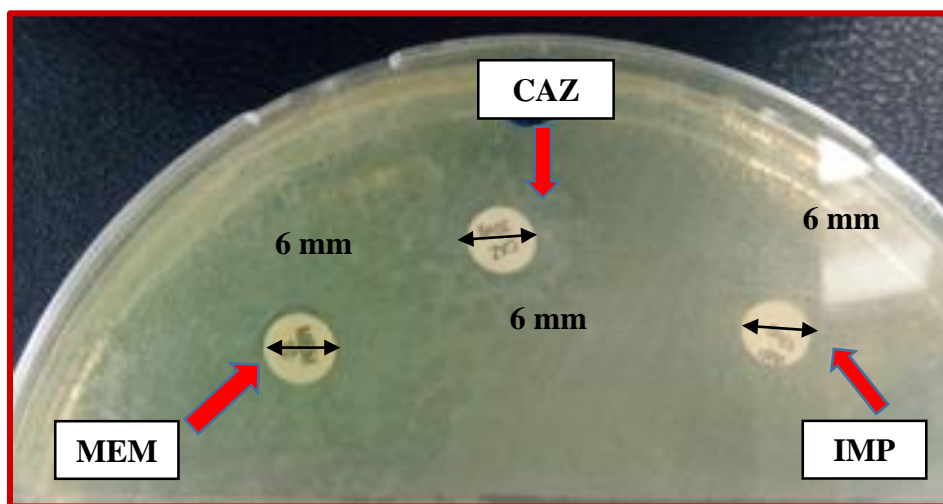
**ANEXO 4. IMÁGENES DE LA DETECCIÓN DE RESISTENCIA A LOS CARBAPENEMICOS EN *Pseudomonas aeruginosa*.**



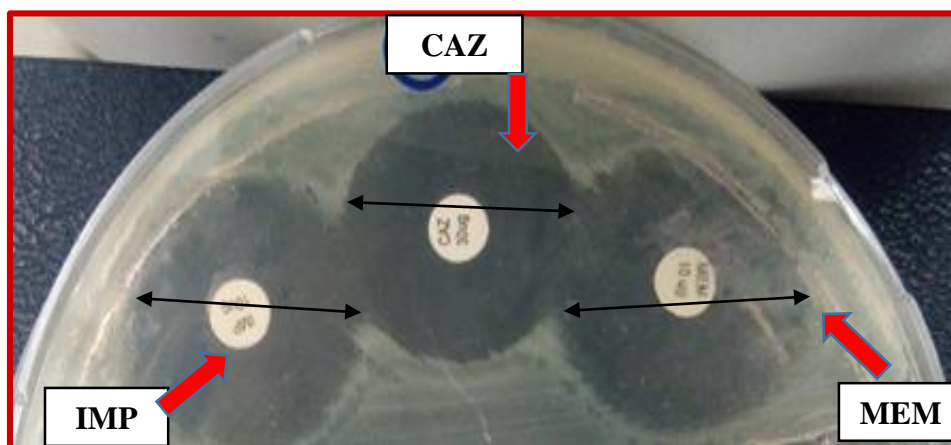
**Figura 15.** Prueba de tamizaje POSITIVO para detección de posible carbapenemasas. MEM, meropenem; CAZ, ceftazidima.



**Figura 16.** Prueba de tamizaje NEGATIVO para detección de posible carbapenemasas. MEM, meropenem; CAZ, ceftazidima.

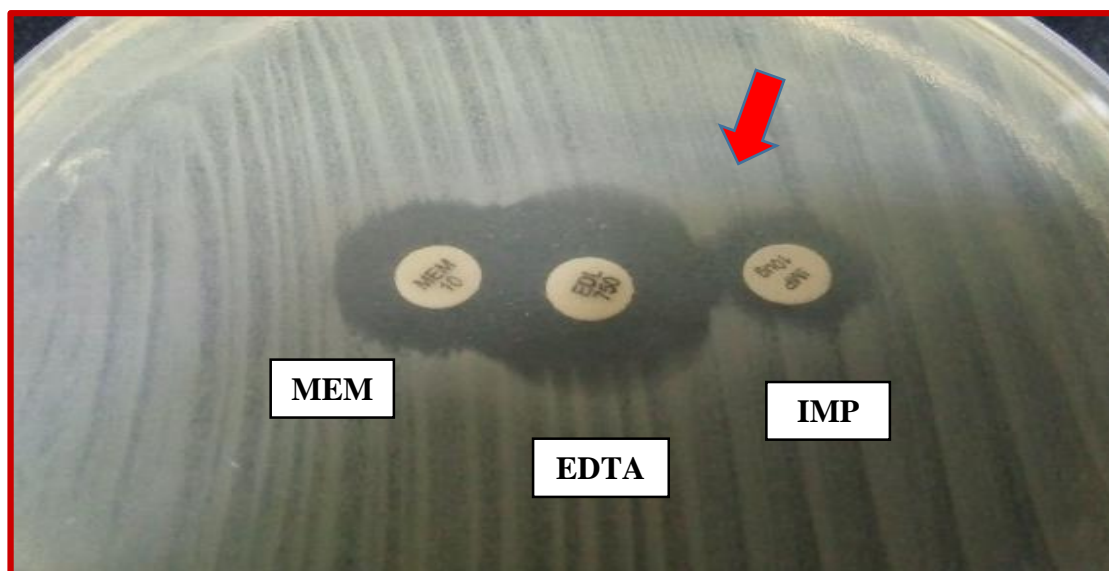


**Figura 17.** Prueba de tamizaje POSITIVO para detección de posible carbapenemasas. MEM, meropenem; CAZ, ceftazidima.

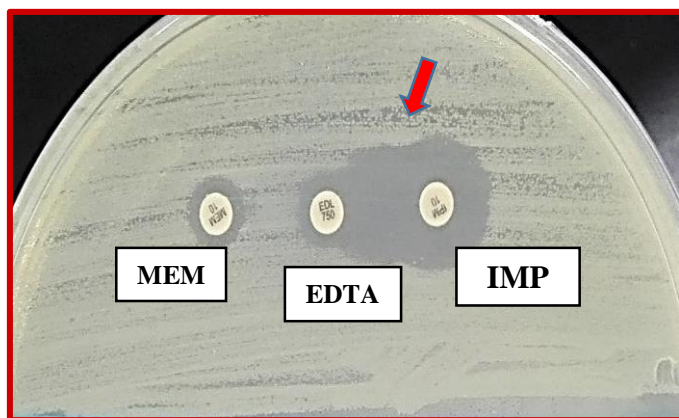


**Figura 18.** Prueba de tamizaje NEGATIVO para detección de posible carbapenemasas. MEM, meropenem; CAZ, ceftazidima.

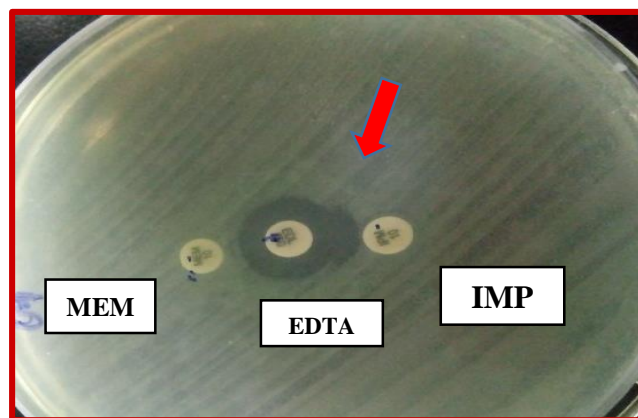
**ANEXO 5. IMÁGENES DE LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS MEDIANTE MÉTODOS FENOTÍPICO DE SINERGIA DE DOBLE DISCO (DDS).**



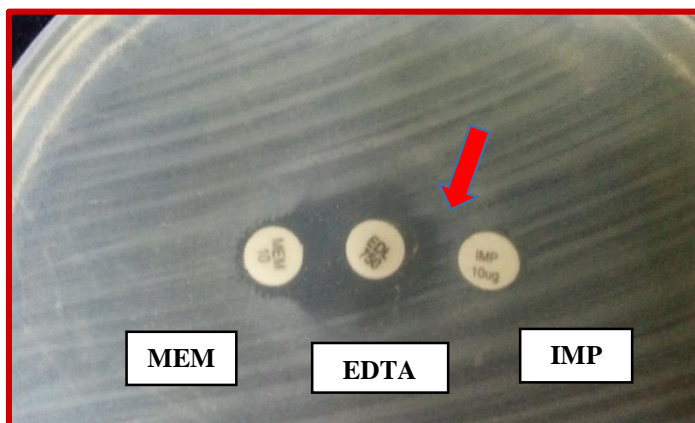
**Figura 19.** Cultivo POSITIVO para test de confirmación carbapenemasas de tipo metalo- $\beta$ -lactamasas. Se observa la sinergia positiva hacia el EDTA.  
IMP, imipenem; EDTA; MEM, meropenem.



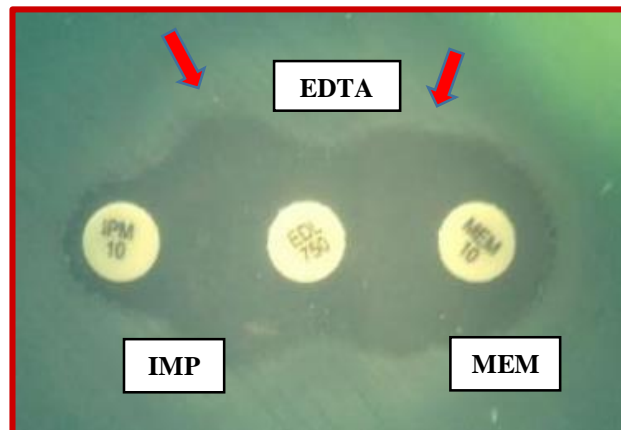
**Figura 20.** Cultivo POSITIVO para test de confirmación carbapenemasas de tipo MBL. Se observa la sinergia positiva (efecto huevo) hacia el EDTA.  
IMP, imipenem; EDTA; MEM, meropenem.



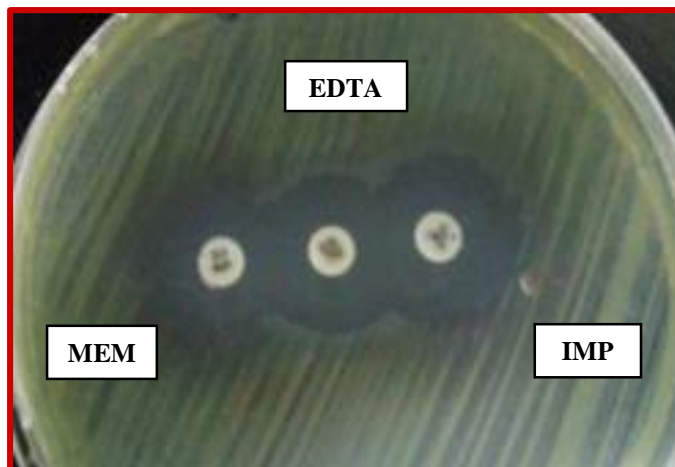
**Figura 21.** Cultivo POSITIVO para test de confirmación carbapenemasas de tipo MBL. Se observa la sinergia positiva (efecto huevo) hacia el EDTA.  
IMP, imipenem; EDTA; MEM, meropenem.



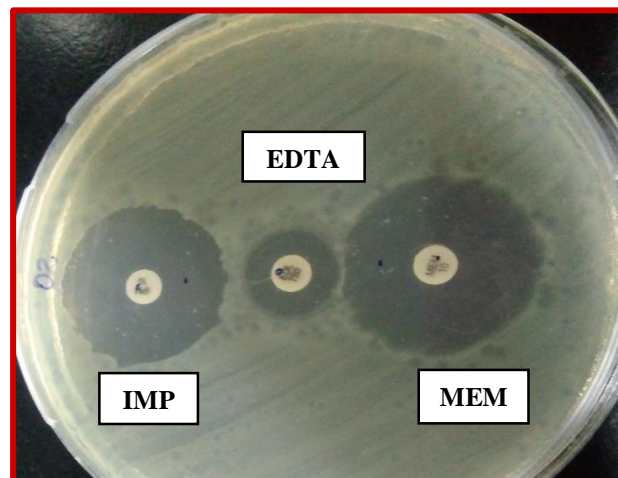
**Figura 22.** Cultivo POSITIVO para test de confirmación carbapenemasas de tipo MBL. Se observa la sinergia positiva (efecto huevo) hacia el EDTA.  
IMP, imipenem; EDTA; MEM, meropenem.



**Figura 23.** Cultivo POSITIVO para test de confirmación carbapenemasas de tipo MBL. Se observa la sinergia positiva (efecto huevo) hacia el EDTA.  
IMP, imipenem; EDTA; MEM, meropenem.



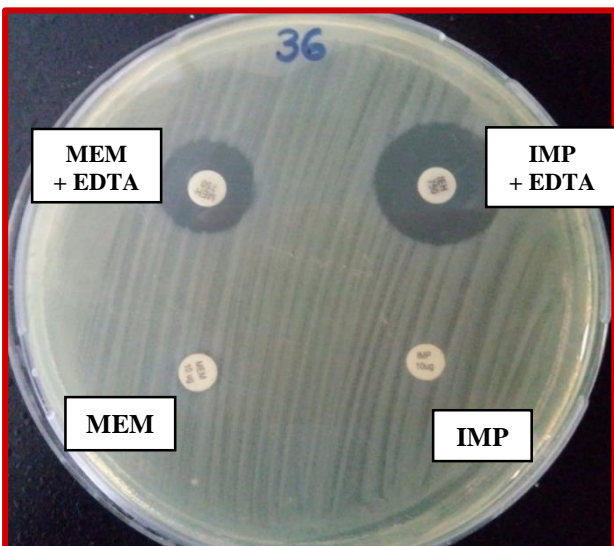
**Figura 24.** Cultivo NEGATIVO para test de confirmación carbapenemasas de tipo MBL. No se observa sinergia hacia el EDTA. IMP, imipenem; EDTA; MEM, meropenem.



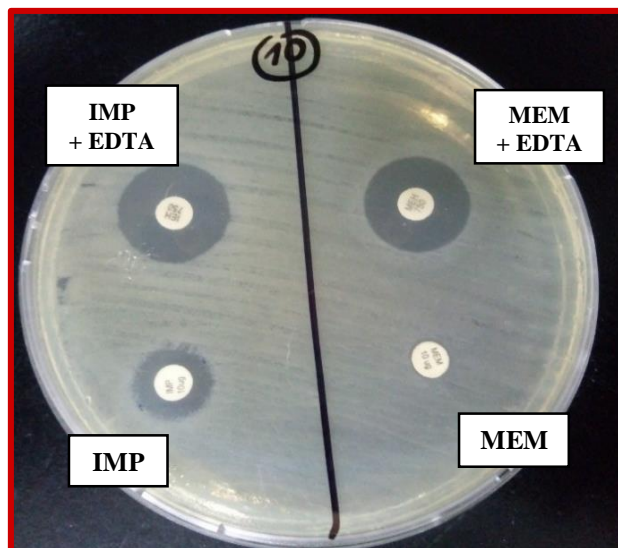
**Figura 25.** Cultivo NEGATIVO para test de confirmación carbapenemasas de tipo MBL. No se observa sinergia hacia el EDTA. IMP, imipenem; EDTA; MEM, meropenem.



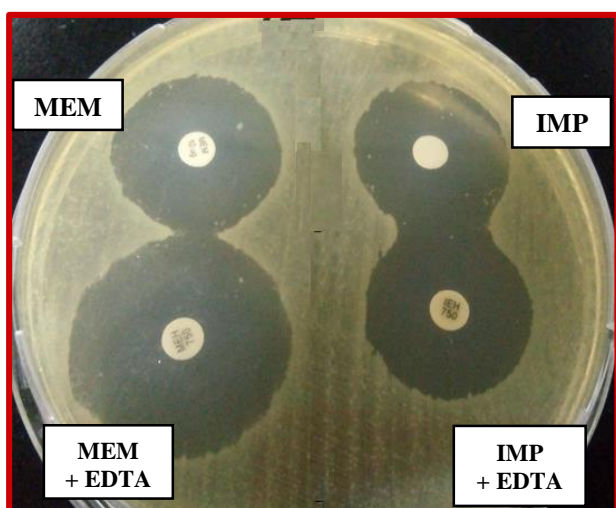
**ANEXO 6. IMÁGENES DE LA DETECCIÓN DE CARBAPENEMASAS MEDIANTE MÉTODOS CON DISCOS COMBINADOS CON INHIBIDOR (EDTA).**



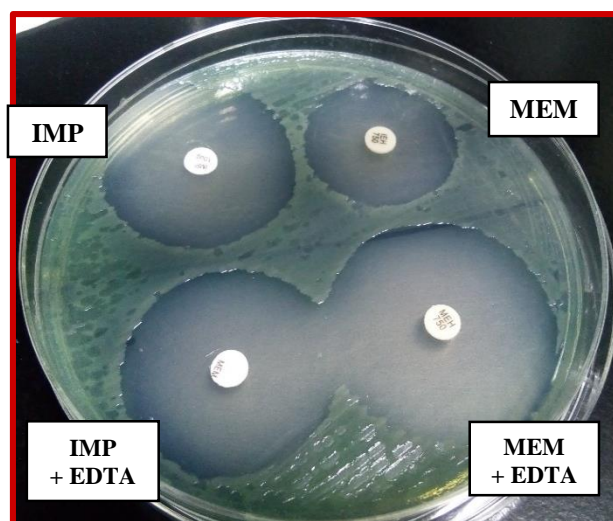
**Figura 26.** Cultivo POSITIVO a la confirmación de carbapenemasas de tipo MBL. La diferencia de los halos del IMP y MEM con los de EDTA/IMP y EDTA/MEM fue  $\geq 5$  mm. IMP, imipenem; EDTA; MEM, meropenem.



**Figura 27.** Cultivo POSITIVO a la confirmación de carbapenemasas de tipo MBL. La diferencia de los halos del IMP y MEM con los de EDTA/IMP y EDTA/MEM fue  $\geq 5$  mm. IMP, imipenem; EDTA; MEM, meropenem.



**Figura 28.** Cultivo NEGATIVO a la confirmación de carbapenemasas de tipo MBL. La diferencia de los halos del IMP y MEM con los de EDTA/IMP y EDTA/MEM fue  $\leq 5$  mm. IMP, imipenem; EDTA; MEM, meropenem.



**Figura 29.** Cultivo NEGATIVO a la confirmación de carbapenemasas de tipo MBL. La diferencia de los halos del IMP y MEM con los de EDTA/IMP y EDTA/MEM fue  $\leq 5$  mm. IMP, imipenem; EDTA; MEM, meropenem.

## **ANEXO 7. MEDIO PARA CONSERVACIÓN LA DE LAS CEPAS DE *P. aeruginosa*.**

Para la conservación de cepas de *P. aeruginosa* se utilizó caldo BHI y Glicerol, al 15% para bacterias, en las siguientes proporciones:

- Para un litro (de medio para conservación), se utilizó 850 ml de caldo BHI Y 150 ml de Glicerol  
El glicerol estaba en medio líquido mientras que el BHI estaba en polvo y su preparación fue la siguiente:
- Para un litro (agua desmineralizada) se agregó 37 gr BHI en polvo y se homogeneizó.  
La preparación de todo el medio fue de la siguiente manera:
- Se preparó el caldo BHI en las cantidades necesitadas, se homogeneizó, Se agregó glicerol, se homogenizó, finalmente se colocó en crioviales y se autoclavó a 121°C durante 15 minutos.

## **ANEXO 8. DATOS DE LAS CEPAS EN ESTUDIO.**

<b>Nº</b>	<b>TIPO DE MUESTRA</b>	<b>SEXO</b>	<b>SERVICIO DE AISLAMIENTO</b>	<b>PROCEDENCIA</b>
1	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
2	ORINA	F	UCI	HOSPITALIZACION
3	ORINA	M	UCI	HOSPITALIZACION
4	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
5	ASP ENDOTRAQUEAL	F	UCI	HOSPITALIZACION
6	ORINA	M	NEUROLOGIA	HOSPITALIZACION
7	ASP ENDOTRAQUEAL	M	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
8	ASP ENDOTRAQUEAL	F	UCI	HOSPITALIZACION
9	ASP ENDOTRAQUEAL	F	UCI	HOSPITALIZACION
10	ORINA	F	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
11	ORINA	F	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
12	ASP ENDOTRAQUEAL	M	NEUROLOGIA	HOSPITALIZACION
13	ORINA	M	MEDICINA INTERNA	EMERGENCIA
14	ORINA	F	UCI	HOSPITALIZACION
15	ASP ENDOTRAQUEAL	M	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
16	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
17	ORINA	F	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
18	ORINA	F	CIRUGIA PEDIATRICA	HOSPITALIZACION

19	SECRECION DE HERIDA	M	UCI	HOSPITALIZACION
20	HEMOCULTIVO	M	EMERGENCIAS	HOSPITALIZACION
21	ASP ENDOTRAQUEAL	M	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
22	ASP ENDOTRAQUEAL	M	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
23	ORINA	M	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
24	ASP ENDOTRAQUEAL	F	UCI	HOSPITALIZACION
25	ORINA	M	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
26	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	EMERGENCIA
27	ORINA	F	EMERGENCIAS	HOSPITALIZACION
28	SECRECION DE HERIDA	F	EMERGENCIAS	HOSPITALIZACION
29	ORINA	F	EMERGENCIAS/URGENCIAS	HOSPITALIZACION
30	ORINA	F	UCI	HOSPITALIZACION
31	ASP ENDOTRAQUEAL	F	UCI	HOSPITALIZACION
32	ORINA	M	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
33	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
34	ASP ENDOTRAQUEAL	F	UCI	HOSPITALIZACION
35	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
36	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
37	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
38	ORINA	F	CARDIOLOGIA	HOSPITALIZACION
39	ORINA	M	UCI	HOSPITALIZACION
40	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
41	ORINA	M	UROLOGIA	HOSPITALIZACION
42	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
43	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
44	ASP ENDOTRAQUEAL	F	UCI	HOSPITALIZACION
45	ASP ENDOTRAQUEAL	F	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
46	ASP ENDOTRAQUEAL	F	UCI	HOSPITALIZACION
47	ASP ENDOTRAQUEAL	F	UCI	HOSPITALIZACION
48	ASP ENDOTRAQUEAL	F	UCI	HOSPITALIZACION
49	ASP ENDOTRAQUEAL	F	CIRUGIA	HOSPITALIZACION
50	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION

51	ORINA	F	UROLOGIA	HOSPITALIZACION
52	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
53	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
54	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
55	ORINA	M	UROLOGIA	HOSPITALIZACION
56	ASP ENDOTRAQUEAL	F	MEDICINA INTERNA	HOSPITALIZACION
57	ORINA	F	UROLOGIA	HOSPITALIZACION
58	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
59	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION
60	ASP ENDOTRAQUEAL	M	UCI	HOSPITALIZACION

**ANEXO 9. ABREVIATURAS, Y FUNDAMENTO DE LAS REACCIONES DE SUSTRATOS DEL PANEL PARA GRAM NEGATIVOS EN EL MICROSCAN.**

**Cuadro 1. Reacción bioquímica de los sustratos frente a los reactivos.**

POCILLO	REACTIVO	POSITIVO	NEGATIVO
<b>GLU</b>		<b>Solo amarillo intenso</b>	<b>De naranja a rojo.</b>
<b>SUC, SSOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL</b>		De amarillo a amarillo / naranja	De naranja a rojo.
<b>URE</b>		De magenta a rosa	Amarillo, naranja o rosa claro.
<b>IND</b>	Añade 3 gotas (o una gota si el panel se lee visualmente) del reactivo de kovac, Microscan.  El color se desarrolla inmediatamente	De rosa a rojo.	De amarillo claro a naranja.
<p><b>Compare LYS, ARG, Y ORN con DCB. Debe recubrirse con aceite el pocillo de DDB para que los resultados siguientes sean válidos. En el caso de los no fermentadores, una prueba positiva debe tener un tono morado bastante más intenso que el del control base Si el control base es morado, se ha alcalinizado el medio base y los pocillos de LYS, ARG y ORN deben informarse como negativos. La especie <i>Achromobacter</i> y <i>Ochrobactrom anthrope</i> suelen ofrecer esos resultados.</b></p>			



<b>LYS ARG ORN</b>		De morado a gris.	Fermentadores: Amarillo No fermentadores: De incoloro a gris.
<b>TDA</b>	Añadir un gota de cloruro férrico al 10 %.El color se desarrolla inmediatamente.	Cualquier tono marrón.	De amarillo a naranja.
<b>ESC</b>		De marrón claro a negro	De beige a incoloro.
<b>VP</b>	Añada 1 gota de KOH al 40% y, a continuación,	Rojo	Incoloro
	1 gota de Alfa naftol al 5%. Espere 20 minutos como mínimo para que se desarrolle la reacción.	Algunos no fermentadores pueden producir un color rosa claro. Después de 18 horas de incubación, lo que debe considerarse negativo	
<b>ONPG</b>		Amarillo	Incoloro
		Compare cualquier pocillo de ONPG que tenga un color claro con el pocillo de cetrímide. Si el pocillo de ONPG muestra cualquier tono amarillo en comparación con el pocillo de cetrímide, infórmelo como positivo.	
<b>CIT, MAL, TAR, ACE</b>		De azul a azul verdoso Cualquier tono de azul se considera positivo.	De verde a amarillo
<b>CET</b>		Crecimiento	No crecimiento.
<b>OF/G</b>	NOTA: Compare con el control de la OF base. Si la OF base es verde: Si la OF base es azul o azul verdoso.	Amarillo De amarillo a verde.	De verde a azul. Azul.
<b>NIT</b>	Añada 1 gota de ácido sulfanílico al 0,8% y, a	Rojo	De incoloro a rosa claro

	continuación.1 gota de a N.N-dimetil-alfa- naftilamina al 0,5%. Espere 5 minutos como mínimo para que se desarrolle la reacción.		
<b>P<sub>4</sub>, K<sub>4</sub>, Cl<sub>4</sub>, Fd<sub>64</sub>, To<sub>4</sub>, Cf<sub>8</sub>.</b>		Crecimiento (resistente).	No crecimiento (sensible).
<b>LOC</b>	Solo para el reconocimiento de paneles en el autoSCAN 4 y el sistema WalkAway.		

**Cuadro 2.** Fundamento de las reacciones de identificación de bacterias Gram negativos en el equipo MicroScan.

<b>SUSTRATOS</b>	<b>FUNDAMENTO</b>
<b>GLU,SUC,SOR: RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL</b>	La fermentación de un carbohidrato específico produce la formación de ácido y la disminución del pH, detectada por un indicador rojo de fenol.
<b>Sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S):</b>	El gas de sulfuro de hidrógeno se produce a partir de tiosulfato de sodio y reacciona con iones férricos en el medio para producir un precipitado negro.
<b>Indol (IND):</b>	El resultado del metabolismo del triptófano da lugar a la formación de indol, que se detecta mediante la adición del reactivo de Kovac. Si hay indol, se desarrolla un color rojo.
<b>Lisina, Arginina, Ornitina (IYS, ARG, ORN):</b>	La descarboxilación de estos aminoácidos da lugar a la formación de aminas básicas que se detectan mediante el indicador púrpura de bromocresol.
<b>Urea (URE)</b>	La ureasa escinde la urea formando amoníaco y dióxido de carbono. El amoníaco (en forma de carbonato amónico) produce un aumento de pH que se detecta por el rojo fenol que vira de amarillo a rojo.
<b>Triptófano deaminasa (TDA):</b>	Las bacterias capaces de desaminar el triptófano producen ácido indol pirúvico, que reacciona con citrato férrico de amonio en el

	medio después de añadir cloruro férrico para obtener un color marrón.
<b>Hidrólisis de esculina (ESC):</b>	La hidrólisis de la esculina se detecta mediante citrato férrico de amonio en el medio, que reacciona con los productos hidrolíticos para formar un precipitado negro.
<b>Voges-Proskauer (VP):</b>	La acetoina se produce a partir de piruvato de sodio y se indica mediante la formación de un color rojo después de añadir hidróxido potásico al 40% y, a continuación, alfa naftol al 5%.
<b>Galactosidasa (ONPG):</b>	La p-galactosidasa hidroliza el orto-nitrofenil- $\beta$ -D-galactopiranosido, que libera el orto-nitrofenol de color amarillo.
<b>Citrato, Malonato, Acetamida, Tartrato (CIT, MAL, ACE, TAR):</b>	El uso de estos sustratos como fuente única de carbono para el metabolismo conlleva un aumento del pH, que se detecta mediante el indicador azul de bromotimol.
<b>Oxidación-Fermentación (OF/G):</b>	La oxidación de la glucosa produce la formación de ácido y una disminución del pH, que se detecta mediante un indicador azul de bromotimol. La OF/G se compara con la OF/B (base) para determinar si se ha producido algún ácido.
<b>Nitrato (NIT):</b>	La capacidad de un microorganismo de reducir el nitrato a nitrito se detecta mediante la adición de ácido sulfanílico y, a continuación, N,N-dimetil-alfa-naftilamina, que produce un color rojo en presencia de nitritos.
<b>Cetrimida (CET):</b>	La tolerancia a la cetrimida se demuestra mediante el crecimiento en caldo Mueller-Hinton suplementado con cetrimida.
<b>Penicilina, Kanamicina, Colistina, Cefalotina, Nitrofurantoína, Tobramicina (P4, K4, Cl4, Cf8, Fd64, To4):</b>	La resistencia a determinadas concentraciones de estos antimicrobianos se muestra mediante el crecimiento.

**ANEXO 10. ABREVIATURAS, DE LOS ANTIBIÓTICOS UTILIZADOS EN EL PANEL DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANA.**

**Cuadro 1.** Antibióticos del panel de identificación para Gram negativos del MicroScan y sus abreviaturas.

<b>ANTIMICROBIANO</b>	<b>ABREVIATURA</b>
<b>Amicacina</b>	Ak
<b>Amoxicilina/A Clavulánico</b>	Aug
<b>Ampicilina</b>	Am
<b>Ampicilina /Sulbactam</b>	A/S
<b>Aztreonam</b>	Azt
<b>Cefazolina</b>	Cfz
<b>Cefepima</b>	Cpe
<b>Cefotaxima</b>	Cft
<b>Cefotaxima/ Ac. clavulánico</b>	Cft/CA
<b>Cefotetan</b>	Ctn
<b>Cefoxitina</b>	Cfx
<b>Ceftazidima</b>	Caz
<b>Ceftazidima/A. clavulánico.</b>	Caz/ CA
<b>Ceftriaxona</b>	Cax
<b>Cefuraxima</b>	Crm
<b>Ciprofloxacina</b>	Cp
<b>Doripenem</b>	Dor
<b>Ertapenem</b>	Ert
<b>Gentamicina</b>	Gm
<b>Imipenem</b>	Imp
<b>Levofloxacina</b>	Lvx
<b>Meropenem</b>	Mer
<b>Nitrofurantoina</b>	Fd
<b>Norfloxacina</b>	Nxn
<b>Piperaciclina</b>	Pi
<b>Piperaciclina /Tazobactam</b>	P/T
<b>Tetraciclina</b>	Te
<b>Tigeciclina</b>	Tgc
<b>Tobramicina</b>	To
<b>Trimetropim/sulfametoxazol.</b>	T/S